



Universidad Nacional Mayor de San Marcos

Universidad del Perú. Decana de América

Dirección General de Estudios de Posgrado

Facultad de Medicina

Unidad de Posgrado

**Influencia del tipo de masticación sobre la memoria-
aprendizaje espacial en ratones albinos de la cepa
BALB/c jóvenes, adultos y seniles. Lima 2015**

TESIS

Para optar el Grado Académico de Doctor en Neurociencias

AUTOR

Elías Ernesto AGUIRRE SIANCAS

ASESOR

Nelly Maritza LAM FIGUEROA

Lima, Perú

2017



Reconocimiento - No Comercial - Compartir Igual - Sin restricciones adicionales

<https://creativecommons.org/licenses/by-nc-sa/4.0/>

Usted puede distribuir, remezclar, retocar, y crear a partir del documento original de modo no comercial, siempre y cuando se dé crédito al autor del documento y se licencien las nuevas creaciones bajo las mismas condiciones. No se permite aplicar términos legales o medidas tecnológicas que restrinjan legalmente a otros a hacer cualquier cosa que permita esta licencia.

Referencia bibliográfica

Aguirre E. Influencia del tipo de masticación sobre la memoria-aprendizaje espacial en ratones albinos de la cepa BALB/c jóvenes, adultos y seniles. Lima 2015 [Tesis de doctorado]. Lima: Universidad Nacional Mayor de San Marcos, Facultad de Medicina / Unidad de Posgrado; 2017.



UNIVERSIDAD NACIONAL MAYOR DE SAN MARCOS
 Universidad del Perú, DECANA DE AMÉRICA
FACULTAD DE MEDICINA
SECCIÓN DOCTORAL
 Vice Decanato de Investigación y Unidad de Post Grado



ACTA DE SUSTENTACIÓN DE TESIS PARA OPTAR EL GRADO DE DOCTOR


En la ciudad de Lima, a los diecinueve días, del mes de Julio del año dos mil diecisiete, siendo las 11.30am., ante el Jurado de Sustentación, bajo la Presidencia del Dr. **JOSÉ CARLOS DEL CARMEN SARA**, y los Miembros del mismo, los Doctores:

Dr. JOSÉ CARLOS DEL CARMEN SARA	PRESIDENTE
Dr. TEODORO JULIO OSCANOVA ESPINOZA	MIEMBRO
Dr. JULIO CÉSAR ALFARO MANTILLA	MIEMBRO
Dr. ALBERTO PERALES CABRERA	MIEMBRO
Dra. NELLY MARITZA LAM FIGUEROA	ASESORA

El postulante al Grado de Doctor en **Neurociencias**, es Magíster en **Fisiología**, Don **Elías Ernesto Aguirre Siancas**, procedió a hacer la exposición y defensa pública de su Tesis titulada: **"INFLUENCIA DEL TIPO DE MASTICACIÓN SOBRE LA MEMORIA-APRENDIZAJE ESPACIAL EN RATONES ALBINOS DE LA CEPA BALB/c JOVENES, ADULTOS Y SENILES. LIMA 2015"**, para optar el Grado Académico de Doctor.

Concluida la exposición, se procedió a la evaluación correspondiente, después de la cual obtuvo la siguiente calificación **A Excelente 19**, a continuación el Presidente del Jurado recomienda que la Facultad de Medicina proponga que se le otorgue al Magíster **Elías Ernesto Aguirre Siancas**, el Grado Académico de **Doctor en Neurociencias**.

Se expide la presente Acta en tres originales y siendo las 12.40 m. se da por concluido el acto académico de sustentación.


Dr. TEODORO JULIO OSCANOVA ESPINOZA
 MIEMBRO DEL JURADO DE SUSTENTACIÓN


Dr. JULIO CÉSAR ALFARO MANTILLA
 MIEMBRO DEL JURADO DE SUSTENTACIÓN


Dr. ALBERTO PERALES CABRERA
 MIEMBRO DEL JURADO DE SUSTENTACIÓN


Dra. NELLY MARITZA LAM FIGUEROA
 ASESORA DE LA TESIS DE SUSTENTACIÓN


Dr. JOSÉ CARLOS DEL CARMEN SARA
 PRESIDENTE DEL JURADO DE SUSTENTACIÓN

Agradecimientos

Al autor de todo, por permitir a los hombres el descubrimiento de la ciencia y por medio de ella entender una pequeña porción de su creación.

A toda mi inmensa familia sanguínea, no sanguínea y espiritual, por estar siempre allí

A mis amigos de la infancia y de la adultez, del colegio, del barrio, de la universidad y del internet, por tener la inmensa suerte de tenerlos y de ser una fuente inmensa de inspiración académica y no académica.

A mis grandes maestros y mentores de la Universidad Nacional Mayor de San Marcos.

A la educación pública peruana de nivel inicial, primaria, secundaria, de pregrado y de posgrado, porque yo soy producto ella.

ÍNDICE GENERAL

a. Parte Preliminar

	Página
Veredicto de la tesis por los miembros del Jurado examinador	ii
Página de dedicatoria y agradecimiento	iii
Índice General	iv
Lista de Cuadros	viii
Lista de Figuras	ix
Lista de Anexos	xi
Resumen	xiii
Abstract	xiv

b. Cuerpo de la Tesis

	Página
CAPÍTULO 1: INTRODUCCIÓN	1
1.1. Situación Problemática	1
1.2. Formulación del Problema	5
1.2.1. Problema General	5
1.3. Justificación	5
1.3.1. Justificación Teórica de la Investigación	5
1.3.2. Justificación Práctica de la Investigación	6
1.4. Objetivos de la Investigación	6
1.4.1. Objetivo General	6
1.4.2. Objetivos Específicos	7

CAPÍTULO 2: MARCO TEÓRICO	8
2.1. Marco Filosófico o Epistemológico de la Investigación	8
2.1.1. Origen del sistema estomatognático y de la función masticatoria	8
2.2.2. La memoria desde la teoría informacional de la personalidad	11
2.2. Antecedentes de Investigación	14
2.3. Bases Teóricas	19
2.3.1. La Memoria y el Aprendizaje	19
2.3.1.1. Rol central de la formación hipocampal en la memoria y el aprendizaje	22
2.3.1.2. Memoria espacial en el envejecimiento y en el aprendizaje en humanos y animales.	26
2.3.2. El Sistema Estomatognático y la masticatoria	29
2.3.2.1. Masticación normal y masticación deficiente.	31
2.3.2.2. Neurogénesis de la masticación	32
2.3.2.3. Los posibles caminos desde la cavidad oral hacia el hipocampo	32
2.3.2.4. Integración de los conceptos de masticación y función hipocampal en la fisiología humana	35
2.3.3. Los ratones BALB/c	36
2.3.3.1. Paradigmas para modificar la función masticatoria en roedores.	37
2.3.3.2. Paradigmas empleados en la evaluación de la memoria y aprendizaje espacial: El Laberinto Acuático de Morris	37

4.1.3. Presentación Inferencial de las Variables Evaluadas	51
4.1.3.1. Resultados para la Fase de Adquisición de Memoria-Aprendizaje Espacial en el Laberinto de Morris	51
4.1.3.2. Resultados para la Fase de Recuperación de Memoria-Aprendizaje Espacial en el Laberinto de Morris	55
4.2. Análisis, interpretación y discusión de Resultados	59
4.3. Prueba de hipótesis	64
4.3.1. Hipótesis General de Investigación	64
4.3.2. Hipótesis Específica de Investigación	64
4.3.3. Análisis de los Datos Obtenidos	64
4.3.4. Contrastación de las Hipótesis	65
4.3.4.1. Planteamiento de las Hipótesis Estadísticas	65
4.3.4.2. Procedimiento estadístico	65
CONCLUSIONES	68
RECOMENDACIONES	69
REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS	70
ANEXOS	77

LISTA DE CUADROS

	Página
Cuadro 1. Visión general de las características de la población estudiada y su distribución según edad y tipo de masticación	48
Cuadro 2. Determinación de los tipos de masticación en cada subgrupo de cada grupo etario	49
Cuadro 3. Tiempos que tardaron los ratones en encontrar la plataforma oculta en el laberinto de Morris en la fase de adquisición de memoria-aprendizaje espacial por cada día de ensayos y por cada grupo y subgrupo etario	50
Cuadro 4. Tiempos de las 2 pruebas evaluadas en la fase recuperación de memoria-aprendizaje espacial por cada grupo y subgrupo etario	51

LISTA DE FIGURAS

	Página
Figura 1. Comparación de los tiempos que tardaron los ratones jóvenes en encontrar la plataforma oculta por cada día en la fase de adquisición de memoria-aprendizaje espacial	52
Figura 2. Comparación de los tiempos que tardaron los ratones adultos en encontrar la plataforma oculta por cada día en la fase de adquisición de memoria-aprendizaje espacial	53
Figura 3. Comparación de los tiempos que tardaron los ratones seniles en encontrar la plataforma oculta por cada día en la fase de adquisición de memoria-aprendizaje espacial	54
Figura 4. Comparación de los resultados de las pruebas de la fase adquisición de memoria-aprendizaje espacial entre los 3 subgrupos etarios agrupados por tipo de masticación	55
Figura 5. Comparación de los resultados de las pruebas de la fase adquisición de memoria-aprendizaje espacial entre los 3 subgrupos etarios agrupados por tipo de masticación	56
Figura 6. Comparación de los tiempos que los ratones tardaron en llegar a la zona donde estuvo la plataforma oculta en la fase de recuperación de memoria-aprendizaje espacial	57
Figura 7. Comparación de los resultados del tiempo que nadaron los ratones en el cuadrante objetivo en la fase de recuperación de memoria-aprendizaje espacial entre los 3 subgrupos etarios agrupados por tipo de masticación	58

Figura 8. Comparación de los resultados del tiempo que los ratones tardaron en llegar a la zona donde estuvo la plataforma oculta en la fase de recuperación de memoria-aprendizaje espacial entre los 3 subgrupos etarios agrupados por tipo de masticación

LISTA DE ANEXOS

	Página
Anexo 1. Foto de las dietas empleadas para inducir los tipos de masticación	77
Anexo 2. Foto de los grupos experimentales donde se observan las dietas que indujeron los tipos de masticación	77
Anexo 3. Vista en primer plano de la plataforma de escape empleada dentro de la adaptación de la piscina de Morris	78
Anexo 4. Vista del laberinto de Morris habiendo ya agregando el agua tintada de negro en cuyo interior está la plataforma de escape	78
Anexo 5. Operacionalización de variables	79
Anexo 6. Vista de un ratón en pleno nado en la fase de adquisición de memoria-aprendizaje espacial	81
Anexo 7. Vista en primer plano de un ratón que ha llegado a la plataforma en la fase de adquisición de memoria-aprendizaje espacial	81
Anexo 8. Prueba de Normalidad Ratones Jóvenes	82
Anexo 9. Prueba de Normalidad Ratones Adultos	83
Anexo 10. Prueba de Normalidad Ratones Seniles	84
Anexo 11. Principios Directrices Internacionales para la Investigación Biomédica que Implique el Uso de Animales	85
Anexo 12. Aprobación del Comité de Ética de Investigación de la Facultad de Medicina de la UNMSM	87
Anexo 13. Prueba de Modelo General Lineal para evaluar el efecto del tipo de masticación en la fase de adquisición en cada grupo etario	88

Anexo 14. Prueba de Anova para evaluar el efecto del tipo de masticación sobre los 3 grupos etarios en la fase de adquisición de memoria-aprendizaje espacial	89
Anexo 15. Prueba Post hoc de Tukey para los 3 grupos etarios agrupados bajo masticación normal	90
Anexo 16. Prueba Post hoc de Tukey para los 3 grupos etarios agrupados bajo masticación deficiente	91
Anexo 17. Prueba de Anova para evaluar el efecto del tipo de masticación sobre los 3 subgrupos etarios en la fase de recuperación de memoria- aprendizaje espacial en la prueba de tiempo de nado en el cuadrante objetivo	92
Anexo 18. Prueba de Anova para evaluar el efecto del tipo de masticación sobre los 3 subgrupos etarios en la fase de recuperación de memoria-aprendizaje espacial en la prueba de tiempo que tardó el ratón en llegar a la zona donde estuvo la plataforma oculta	93

RESUMEN

Objetivo principal: Determinar la influencia del tipo de masticación sobre la memoria-aprendizaje espacial en ratones albinos jóvenes, adultos y seniles. **Diseño:** Estudio experimental. **Lugar:** Bioterio de la Facultad de Medicina de la Universidad Nacional Mayor de San Marcos. **Material biológico:** 60 ratones. **Intervenciones:** Los 60 fueron divididos en tres grupos etarios de 20 ratones jóvenes, adultos y seniles. Cada grupo de 20 ratones fue randomizado en dos subgrupos iguales, un subgrupo se mantuvo con la misma dieta granosa que recibieron desde el destete (grupo masticación normal), el otro subgrupo se alimentó con la misma dieta pero pulverizada (grupo masticación deficiente). Durante 2 meses se sometió a cada subgrupo a su dieta respectiva, evaluándose, la memoria-aprendizaje espacial, a los 4 meses en los 2 subgrupos de ratones jóvenes, a los 7 meses en los 2 subgrupos de ratones adultos y a los 11 meses en los 2 subgrupos de ratones seniles. **Principales medidas de resultados:** Pruebas cronométricas en la fase de adquisición y en la fase de recuperación de memoria-aprendizaje espacial en el laberinto acuático de Morris. **Resultados:** En los ratones jóvenes y seniles, no hubo significancia al comparar ambos tipos de masticación ($p > 0.05$) en ninguna de las fases evaluadas. En los ratones adultos hubo diferencia significativa ($p = 0,035$) en el primer día de la fase de adquisición a favor del grupo masticación normal. Al comparar, en la fase de adquisición, los 3 grupos etarios agrupados bajo masticación normal no hubo significancia entre los ratones jóvenes y adultos, pero sí al compararlos con los ratones seniles ($p = 0,000$). En los ratones bajo masticación deficiente no hubo significancia entre los ratones adultos y seniles, pero sí al compararlos con los ratones jóvenes ($p = 0,002$). **Conclusión:** En el grupo de ratones adultos la masticación normal tiene un efecto positivo sobre la adquisición de información de memoria-aprendizaje espacial y evitaría su deterioro.

Palabras clave: Memoria espacial, aprendizaje espacial, masticación.

ABSTRACT

Objective: Determine the influence of chewing type on memory-spatial learning in young, adult and senile albino mice. **Design:** Experimental study. **Place:** Faculty of Medicine of the National University of San Marcos. **Biological material:** 60 mice. **Interventions:** The 60 mice were divided into three age groups of 20 young, adult and senile mice. Each group of 20 mice was randomized into two equal subgroups, one subgroup was maintained with the same grainy diet they received since weaning (normal chewing group), the other subgroup was fed the same diet but pulverized (poor chewing group). During 2 months, each subgroup was submitted to their respective diet. The spatial memory-learning being evaluated at 4 months in the 2 subgroups of young mice, at 7 months in the 2 subgroups of adult mice and at 11 months in the 2 subgroups of senile mice. **Main results measures:** Chronometric tests in the acquisition phase and the probe test of the spatial learning-memory in the Morris water maze. **Results:** In the young and senile mice, there was no significance when comparing both types of mastication ($p > 0.05$) in any of the evaluated phases. In adult mice there was significant difference ($p = 0.035$) on the first day of the acquisition phase in favor of the normal chewing group. When comparing, in the acquisition phase, the 3 age groups grouped under normal chewing were not significant between young and adult mice, but there were differences when comparing them with senile mice ($p = 0.000$). In mice under poor chewing there was no significance between adult and senile mice, but there were differences when comparing them with young mice ($p = 0.002$). **Conclusion:** In the group of adult mice, normal chewing has a positive effect on the acquisition of spatial memory-learning information and prevent its deterioration.

Key words: Spatial memory, spatial learning, mastication.

CAPÍTULO 1: INTRODUCCIÓN

1.1. Situación Problemática

Uno de los problemas más significativos que ocurren en los seres humanos, en el transcurso de la vida, es el deterioro de la función de memoria y como consecuencia, de la capacidad de aprender. Dichas funciones cognitivas son de suma importancia y su disminución tiene un impacto social y económico devastador en las personas, las familias, el sistema de salud y la sociedad en su conjunto. Se ha encontrado que este deterioro cognitivo puede deberse a varias causas, siendo algunas claramente entendidas como por ejemplo el "envejecimiento normal", pero también existen otras causas no tan claras que se proponen como ocasionadoras de una variación en las funciones de memoria y aprendizaje, dentro de ellas podemos mencionar la influencia del estímulo musical y la influencia de la función masticatoria (Lozano, L., y Lozano, A., 2007; Kubo, K., Ichihashi, Y., Kurata, Ch., Iinuma, M., Mori D., Katayama, T., Miyake, H., Fujiwara, S., y Tamura, Y., 2010; Sharma, S., Rakoczy, S., y Brown-Borg, H., 2010; Onyper, S., Carr, T., Farrar, J., y Floyd, B., 2011).

Existen varios tipos de memoria asociada al aprendizaje, una variedad es la memoria espacial, la cual se conceptualiza como un subtipo de memoria episódica, siendo la memoria episódica un tipo de memoria declarativa o explícita. La estructura cerebral más importante implicada en la memoria declarativa es el hipocampo, además de áreas de asociación corticales (corteza entorrinal, giro parahipocampal) y amplias áreas de asociación neocortical. Se ha encontrado en humanos y en diseños experimentales en

roedores disminución de la memoria espacial asociada al envejecimiento y también hay evidencia que está asociada a una disminución de la función masticatoria (Vicens, P., Redolat, R., y Carrasco, M., 2003; Kubo, K., et al., 2010; Ono, Y., Yamamoto, T., Yatubo, K., y Onozuka, M., 2010; Sharma, S., et al., 2010; Frota de Almeida, M., De Siqueira Mendes, F., Gurgel, A., Falsoni, M., Ferreira de Andrade, M., Bento-Torres, J., Da Costa, P., Perry, V., Picanço, C., y Kronka, M., 2012).

Clásicamente la masticación es entendida como una función eminentemente digestiva, siendo el primer proceso por el cual debe pasar el alimento para luego ser deglutido y procesado en el tracto digestivo, pero actualmente se empieza a comprender que la función masticatoria también es muy importante, no sólo para la ingesta de alimentos, sino también para funciones psicológicas, físicas y cognitivas (Kubo, K., et al., 2010, Pocock, G., Richards, C., y Richards, D., 2013; Teixeira, F., Pereira, L., Noronha, P., Dos Santos, M., Gomes, W., Ferraz, C., y Lima, R., 2014).

La masticación es una función condicionada, adquirida, automática y esencialmente involuntaria; sin embargo, pueda ser fácilmente sometida bajo control consciente, y experimenta cambios adaptativos durante el decurso de la vida del sujeto (Manns, A., Biotti, J., Brizuela, C., Dolwick, M., Fresno, M., y Gonzales, H., 2013).

Los patrones intrínsecos de los movimientos masticatorios rítmicos (mandibulares-linguales-periorales) y usualmente automáticos, se originan de una red neuronal denominada **generador central de patrones masticatorios (GCPm)** ubicada a nivel pontino medio hasta bulbar alto del tronco encefálico (núcleo reticularis pontis caudalis y sistema reticular medial bulbar alto), y que es modulado tanto por la información sensorial que se desencadena durante el acto masticatorio así como por aquella información superior proveniente de la corteza sensorio-motriz, ganglios basales y otras áreas motoras subcorticales. Expresado en otros términos, la información eferente del GCPm es modificada y modulada por las vías neuronales aferentes que provienen

desde centros motores superiores y por las señales sensoriales de diversos receptores (receptores táctiles intraorales, husos musculares de los músculos elevadores masticatorios y mecanorreceptores periodontales) (Türker, K., 2002; Manns, A., et al, 2013).

La tomografía por emisión de positrones y la resonancia magnética funcional (fMRI) muestran un aumento del flujo sanguíneo bilateralmente en los lóbulos frontales y parietales inferiores durante la masticación de goma de mascar, además de activación generalizada en varias áreas de la corteza somato sensorial, motora suplementaria y la corteza insular, así como en el cuerpo estriado, tálamo, y el cerebelo (Kubo, K., et al., 2010).

La evidencia acumulada sugiere que la adecuada función masticatoria lleva una enorme cantidad de información sensorial hacia el SNC relacionada con el mantenimiento de las funciones de memoria y aprendizaje; esta información, sobre todo, llega a nivel hipocampal (Ono, Y., et al., 2010; Frota de Almeida, M., et al., 2012; Oue, H., Miyamoto, Y., Okada, S., Koretake, K., Jung, C., y Michikawa, M., 2013).

Las alteraciones en el sistema estomatognático que repercuten en una disminución de la función masticatoria puede deberse a varias causas y presentarse en todos los grupos etarios: maloclusiones en la niñez y adolescencia, parafunciones y enfermedad periodontal agregado a las pérdidas dentarias en adultos y sobre todo en personas seniles (Simoes, W., 2003; Planas, P., 2008).

Se ha encontrado en roedores con deficiencia masticatoria una menor capacidad de memorizar y de aprender. Estos animales son todavía capaces de masticar; sin embargo, la deficiencia masticatoria produce cambios degenerativos y anormalidades en los mecanorreceptores periodontales, lo que sugiere una drástica disminución de las vías neuronales aferentes sensoriales del ligamento periodontal hacia el sistema nervioso central (Ono, Y., et al., 2010).

Los animales seniles adquieren la mayoría de las tareas espaciales más lentamente que los jóvenes. Se entiende que a medida que los animales y los seres humanos envejecen, la capacidad de memoria y aprendizaje va disminuyendo. No obstante, existe gran variabilidad interindividual, ya que algunos animales seniles aprenden estas tareas tan eficientemente como los jóvenes, mientras otros muestran marcado deterioro. La alteración de los mecanismos de plasticidad sináptica en el hipocampo podría ser una de las causas del deterioro espacial observado en el envejecimiento. La causa principal del deterioro sería el fallo hipocampal en la codificación de las diferencias en la información contextual que difiere a través de las experiencias. La heterogeneidad de la capacidad de la memoria espacial asociada al envejecimiento estaría relacionada con las diferentes capacidades de procesamiento del hipocampo joven y senil, puesto que algunas de las representaciones espaciales, del entorno y de la orientación, dependen en gran medida de un funcionamiento hipocampal eficiente (Vincens, P., et al., 2003).

Son muchos los estudios que evalúan los efectos de la masticación sobre las habilidades cognitivas donde destacan la evaluación de la memoria. Varios de estos estudios arrojaron un patrón errático de resultados contradictorios; en algunos casos, los resultados positivos resultan ser sorprendentemente difíciles de replicar y en otros la masticación efectiva no mejora la memoria, en los test empleados, comparados con los grupos controles (Overman, A., Sun, J., Golding, A., y Prevost, D., 2009; Nader, I., Gittler, G., Waldherr, K., y Pietschnig, J., 2010).

Por lo expuesto se entiende que las funciones cognitivas de memoria y aprendizaje son importantes para la adecuada supervivencia en los animales y seres humanos, y que la evidencia encontrada hace presumir que la adecuada masticación es uno de los factores que influyen en el óptimo mantenimiento de dichos procesos cognitivos; lamentablemente en nuestro país la prevalencia e incidencia de patologías del sistema estomatognático

que desencadenan una deficiencia masticatoria es alta en los diversos grupos etarios (Aliaga, A., Mattos, M., Aliaga, R., Del Castillo, C., 2011; Campodónico, A., Chein, S., Benavente, L., Vidal, R., Delgadillo, J., y Álvarez, M., 2013), en parte por la falta de un programa estructurado en la prevención y tratamiento y por otro lado por razones económicas. Adicionalmente, el autor de la presente investigación ha observado que entre el personal de salud (médicos, odontólogos, etc.) existe desconocimiento sobre las implicancias que la masticación pueda tener sobre las funciones cognitivas y, finalmente, existiendo resultados controversiales en diversas investigaciones, tanto en animales como en humanos, la presente investigación evaluará dichas variables.

1.2. Formulación del Problema

¿Cuál es la influencia del tipo de masticación sobre la memoria-aprendizaje espacial en ratones albinos jóvenes, adultos y seniles?

1.3. Justificación

1.3.1. Justificación Teórica

La memoria y el aprendizaje son dos de las funciones superiores más importantes cuya adecuada conservación es indispensable para la óptima calidad de vida de los seres vivos. El correcto mantenimiento de dichas funciones está influenciado por múltiples factores como son el envejecimiento y la masticación. Si se entiende que la correcta función masticatoria lleva una gran cantidad de estímulos que activan a diversas áreas del neocórtex, entre la que destaca la formación hipocampal, se trataría de mantener y/o rehabilitar dicha función, dado que la actividad mnésica y de aprendizaje permiten al ser

humano vivir plenamente como individuos sociales en todos los grupos etarios.

1.3.2. Justificación Práctica

El envejecimiento natural, y problemas como el deterioro cognitivo leve o la enfermedad de Alzheimer cursan con diferentes grados de deficiencia en la memoria y el aprendizaje, estando estas funciones cognitivas influenciadas por diversos procesos en estructuras periféricas, la deficiencia masticatoria tienen una alta incidencia y prevalencia en los adultos mayores de nuestro país y en general en Latinoamérica, la correcta rehabilitación de la función masticatoria podría ayudar a mejorar el deterioro en dichas funciones cognitivas. Además, los programas de salud, sobre todo públicos, continúan proponiendo las extracciones dentarias como tratamientos de rutina y, lo que es aún más lamentable, la mayoría de los centros de salud no cuentan con un programa que proporcione una correcta rehabilitación odontológica para así completar los dientes faltantes en los pacientes, dejándolos, sobre todo a los de la tercera edad y de escasos recursos, con serias deficiencias masticatorias y con las repercusiones que ello estaría acarreando en sus funciones cognitivas. Con los conocimientos derivados de la presente investigación se puede fundamentar un serio cambio de mentalidad en el abordaje de nuestros pacientes en relación a las variables de estudios.

1.4. Objetivos de la Investigación

1.4.1. Objetivo General

Determinar la influencia del tipo de masticación sobre la memoria-aprendizaje espacial en ratones albinos jóvenes, adultos y seniles.

1.4.2. Objetivos Específicos

Determinar el tipo de masticación en ratones albinos jóvenes, adultos y seniles.

Evaluar la memoria-aprendizaje espacial en ratones jóvenes, adultos y seniles.

CAPÍTULO 2: MARCO TEÓRICO

2.1. Marco Filosófico o Epistemológico de la Investigación

2.1.1. Origen del sistema estomatognático y de la función masticatoria

Los primeros esbozos del sistema estomatognático como lo conocemos en el ser humano, se hallaron en los anfibios cordados hace aproximadamente 550 millones de años atrás, durante el período cámbrico posteriormente esos anfibios dieron origen a los primeros vertebrados, los que se distinguían por poseer un cuerpo blando de forma cilíndrica y en cuya notocorda central se disponían a ambos lados las diferentes estructuras anatómicas. Estos seres fueron llamados agnathos (sin maxilares) se caracterizaban por poseer un esqueleto axial cartilaginoso. En el extremo anterior del sistema nervioso primitivo se desarrollaba una serie de engrosamientos, los cuales colectivamente se llamaron protocerebro. De ellos nacieron los primeros esbozos de los teleceptores (órganos del olfato, visión y audición). Por otro lado, en el extremo caudal diversas manifestaciones dieron como origen, a un sistema propulsor, la cola. Estos vertebrados habitaban sobre el lodo en estanques de agua y poseían la capacidad de filtrar el fango como forma alimenticia. Para estos efectos en la región orofaríngea se disponía una trompa con actividad de bomba succionadora, la cual estaba contenida en un cesto de rígidas barras llamadas arcos branquiales, las que no estaban conectadas con el cráneo ni con el esqueleto axial. Cada arco branquial poseía una musculatura tensora asociada que permitía la expansión y contracción del espacio protobucofaríngeo. De esta forma, en estos seres, se cumplía con la doble función de respiración y alimentación. De lo anterior se desprende que el acto de succión sea filogenicamente más primitivo que el

acto de la masticación, la cual hace aparición posteriormente en el desarrollo evolutivo de los mamíferos (Lumsden, A., y Osborn, J., 1977; Manns, A., et al., 2013).

Debido a varios factores como los cambios en el requerimiento del hábitat y a la aparición de otros predadores, los agnathos se vieron forzados a desarrollar en la región cefálica un aparato prensil y/o fijador con el fin de atrapar una presa o como defensa. El aparato ventilatorio-alimenticio fue gradualmente especializándose en el aparato masticatorio y separándose de este modo de la función respiratoria en la medida en que los agnathos aumentaban de tamaño, sus requerimientos de oxigenación fueron mayores y en consecuencia fue necesaria una mayor actividad ventilatoria. Esta vigorosa actividad muscular ejercida sobre los arcos branquiales permitió que se produjera una curvatura en forma de “V” en el primer arco branquial originando la articulación epiceratobranquial. Fortuitamente ambos extremos de estos incipientes maxilares empezar a cumplir funciones de sujeción de grandes partículas de alimentos. En la medida que los arcos maxilares aumentaban de tamaño, la piel comenzó a enrollarse sobre los rebordes formando duras concrecencias a manera de conos o ganchos conocidos como dentillos cutáneos o escamas placoides que posteriormente evolucionaron como dientes (Crompton, A., y Parker, P., 1978; Manns, A., et al., 2013).

El plan común filogénico en la construcción del aparato masticatorio de los gnathostomas vertebrados se desarrolló a partir de dos unidades; por un lado la caja craneal con su maxilar unido a él y por otro lado la mandíbula. Ulterior a esta etapa ambos maxilares se articularon entre sí, dando origen a la articulación cuadrado-articular que vinculará por primera vez a ambos maxilares. En la medida que aumentaban los requerimientos alimenticios, así como la necesidad de ejercer mayor fuerza masticatoria, la articulación cuadrado-articular debido a su ubicación y disposición anatómica de escasa ventaja biomecánica, deja de prestar vinculación entre ambos maxilares y se transforma progresivamente en la articulación del yunque y del martillo del oído medio. La antigua articulación cuadrado-articular da paso entonces a una

nueva articulación formada por dos huesos, uno de osificación membranosa representado por la escama del temporal y otro de origen primario membranoso proveniente del hueso dental pero de osificación endocondral que formará el cóndilo mandibular. Ambos huesos darán origen a la articulación dentaria-escamosa presente solo en los mamíferos y anatómicamente descrita como articulación temporomandibular (Lumsden, A., y Osborn, J., 1977; Crompton, A., y Parker, P., 1978; Manns, A., et al., 2013).

La transición de la forma de la cabeza desde los mamíferos, con un cráneo elongado y aplanado, a la de los homínidos con la forma redondeada y acortada de su cráneo, se gestó hace aproximadamente 20 millones de años atrás y se caracterizó por tres hechos básicos que imprimieron un cambio definitivo y fundamental a la estructura craneofacial: la adopción de la postura erecta y del bipedalismo; el aumento del volumen del cerebro y la modificación del aparato masticatorio (Enlow, D., y Hans, M., 2012).

Con el desarrollo de la capacidad de procesar los alimentos y de la confección de armas, la cavidad oral fue progresivamente perdiendo su rol de ataque y aprehensión. Esta selección natural también afectó negativamente a los maxilares y a los dientes. Los maxilares experimentaron una disminución de su tamaño reduciéndose con ello paulatinamente el prognatismo facial en sentido sagital en favor del aumento en sentido vertical. Los dientes fueron disminuyendo paulatinamente en tamaño y en número. La forma dentaria aguzada sin superficies oponibles de las piezas posteriores, propias de la función de desgarrar presente en los primeros mamíferos, dará paso en los homínidos a la aparición de superficies oclusales que permitirán el desarrollo de la oclusión dentaria y consecutivamente de la función de molienda. En los primeros homínidos estas superficies oclusales se caracterizaban por ser planas y lisas permitiendo la ruptura del alimento sólo mediante su aplastamiento o desmenuzamiento. En la especie *homo*, precursora del hombre moderno, las superficies oclusales experimentan una transformación apareciendo múltiples surcos y fisuras que permitirán la formación de delicadas superficies convexas que facilitarán una precisa articulación

dentaria y permitirán con ello una eficacia masticatoria, la cual está presente en el ser humano actual de forma potencial (Enlow, D., y Hans, M., 2012; Manns, A., et al., 2013).

2.1.2. La memoria desde la teoría informacional de la personalidad

Desde el punto de vista de su estructura y actividad, los seres vivos son sistemas abiertos que intercambian materia y energía –estructurada y no estructurada– con el ambiente y los demás seres vivos que los rodean, y así se automantienen, se reproducen y cambian como individuos y como especie. Sin embargo, su actividad individual es autogenerada en el sentido de que se inicia a partir de sus condiciones o necesidades internas, las que deben ser satisfechas desde el medio exterior. Esto significa que todos los animales tienen atributos y características fundamentales que son de la misma naturaleza o traducen una misma esencia en toda la historia del sistema vivo que existe sobre la tierra, la forma de reflexión de la materia que organiza todos y cada uno de sus niveles de complejidad –como son los niveles celular, tisular, orgánico, psíquico en que se organizan los animales, y el social que corresponde a los hombres– es la *información*. La información es lo que en esencia mantiene la organización, la unidad, supervivencia y capacidad de cambio a niveles superiores de complejidad del sistema vivo (Ortiz, C., 1998).

La información se puede concebir como una superestructura que se origina a partir de un conjunto de procesos más elementales, y cuya actividad es el modelo de desarrollo de estos mismos procesos a los que reestructura y convierte en el soporte activo del conjunto del sistema. Por lo tanto, en cada nivel de organización del individuo o del conjunto de individuos la información debe permanecer como una estructura más estable que se mantiene dentro del individuo, o del conjunto organizado de individuos, como es el caso de la sociedad humana, aun cuando la estructura y la actividad de todo el sistema fueran modificadas por contingencias internas del mismo o externas a él (como sucede, por ejemplo, con la enfermedad y la muerte) (Ortiz, C., 1998; Ortiz, C., 2010).

El caso más patente de la enorme capacidad de memoria de un sistema complejo es la del cerebro humano, el cual es capaz de retener y elaborar una cantidad de información muy superior a la que almacenan sus genes, las señales químicas y las señales neurales propias del tejido nervioso en el nivel reticular o ganglionar. Así se explica como la actividad psíquica (no consciente) de los miembros de la especie *homo sapiens* hace miles de años inicio la elaboración de la información psíquica no consciente que disponían como todo animal superior, y llegaron a codificarla y almacenarla en diversos medios que encontraron fuera de ellos en el mundo exterior. De ese modo, una vez codificada esta clase de información fuera de los cerebros de los individuos, en sistemas de memoria extraindividuales, se puede decir que apareció la información social, que es el modelo actual de desarrollo de la sociedad humana y de sus miembros (Ortiz, C., 1998; Ortiz, C., 2010).

Se puede catalogar los sucesivos cambios que se producen durante la gestación, la formación y el desarrollo maduro de la personalidad, que son en realidad procesos mnésicos de retención y uso de información, genética, metabólica, funcional, psíquica inconsciente y psíquica consciente. En tal sentido, en el nivel de la actividad genética de las células, los procesos de memoria comprenden desde la modificación de la actividad de los receptores de la membrana celular, hasta la modificación de la expresión genética del ADN. En el nivel de la actividad metabólica de sus tejidos, la actividad mnésica comprende desde la ligación de los mensajeros químicos de un tejido con los receptores de otro, hasta la formación de nuevas configuraciones de interrelación metabólica intercelular por acción de sustancias o por acción neural, como son los procesos que determinan la diferenciación y migración celular, por ejemplo. En la actividad funcional de los sistemas orgánicos, la actividad mnésica comprende desde la formación de circuitos sensorio-motores segmentarios hasta la formación de nuevas configuraciones en las redes neurales del encéfalo por acción de cambios metabólicos o por efecto de cambios en la actividad psíquica. De igual modo, en el allocortex cerebral la actividad mnésica de nivel psíquico inconsciente comprende la codificación

de señales neurales respecto del medio interno, así como la codificación de los rasgos del ambiente exterior que el feto o el recién nacido es capaz de procesar (Ortiz, C., 1998; Ortiz, C., 2010).

Es un principio ampliamente aceptado que los procesos de organización de los sistemas animales que han surgido en el curso de la filogenia se repiten de modo similar en el curso de la ontogenia de cada individuo. Este principio permite sustentar la conclusión anterior, y asegurar que los distintos niveles de organización del individuo humano son otros tantos sistemas de memoria que repiten aquellos que son propios de las especies animales que le precedieron. Pero se debe añadir el principio por el cual la información de un cierto nivel superior determina cinéticamente la reestructuración de los niveles inmediatamente inferiores, y que de este modo la acumulación de la información por parte de una persona determina su desarrollo repitiendo la historia de la sociedad humana. Por lo tanto, en cada uno de los hombres se tiene que diferenciar entre la información específica a cada sistema de memoria que ya viene codificada epigenéticamente y las modificaciones que se generan cinéticamente desde la sociedad (Ortiz, C., 1998).

Es así como surge la pregunta ¿en qué estructura humana debe codificarse esta información social definida en párrafos anteriores?, la respuesta es que dicha información social debe codificarse en una memoria, y que ésta no es otra que el neocórtex cerebral del ser humano; y al codificarse dicha información social en la memoria neocortical del cerebro humano, éste llega a constituirse en la conciencia, de esta manera la información psíquica que refleja dicha información social, será la conciencia que reestructura cinéticamente a dicho individuo, hasta que éste llega a ser un individuo social, es decir, una personalidad (Ortiz, C., 2010).

Finalmente, se puede resumir diciendo que en el sistema de la personalidad humana habrían por lo menos cinco sistemas de memoria: 1) una memoria genética, que corresponde a cada una de las células; 2) una memoria metabólica, que corresponde a los tejidos; 3) una memoria funcional, que

corresponde a las redes neurales de tipo nuclear; 4) una memoria psíquica inconsciente, que corresponde a las redes neurales del allocortex, y 5) una memoria psíquica consciente, que corresponde a las redes neurales del neocórtex cerebral (Ortiz, C., 1998; Ortiz, C., 2010).

2.2. Antecedentes

Mendes, F., De Almeida, M., Felício, A., Fadel, A., Silva, J., Borralho, T., Da Silva, R., Bento-Torres, J., Vasconcelos, P., Perry, V., Ramos, E., Picanço-Diniz, C., Sosthenes, M., (2013) evaluaron si el ambiente estimulante y la rehabilitación de la función masticatoria podría recuperar el declive de la memoria espacial en ratones albinos hembras. La hipótesis que manejaron fue que la combinación de ambiente estimulante y rehabilitación masticatoria recuperaría el deterioro del aprendizaje espacial que fue inducido por una combinación de ambiente no estimulado y reducción de la actividad masticatoria. Para evaluar los efectos de la rehabilitación masticatoria en el laberinto acuático de Morris, se utilizó diferentes secuencias de dieta duro (HD) y de dieta blanda (SD) en los ratones adultos y seniles incluidos dentro de jaulas con componente ambiental estimulante (EE), (el ambiente estimulante consistía en juegos para ratones y colocación de los alimentos en lugares que estimulaba a los roedores a actividad física), o no estimulado (IE), (el ambiente no estimulado carecía de juegos para ratones y alimentos en lugares de muy fácil acceso que no estimulaba en mucho la actividad física en los roedores). Para imitar la rehabilitación masticatoria, los animales fueron alimentados con dieta dura (HD) seguido de dieta blanda (SD) y continuando con un retorno a la dieta dura (HD), y los compararon con los animales sin rehabilitación, dieta dura (HD) y luego dieta blanda (SD), y con controles que permanecieron los 6 meses u 18 meses siempre con dieta dura (HD). En los resultados se encontró que los promedios de los tiempo de latencia en llegar a la plataforma de escape en el laberinto acuático de Morris fue significativamente mayor en los grupos evaluados tanto a los 6 como a los 18

meses en los que se combinó la reducción de la actividad masticatoria y un componente ambiental no estimulado; por otro lado, la combinación de rehabilitación masticatoria y componente ambiental estimulado recuperó la capacidad de aprendizaje espaciales en los ratones adultos y seniles. Concluyen que una reducción en la actividad masticatoria por la administración de dieta blanda en ratones sedentarios (mantenidos en el ambiente no estimulado) deteriora el aprendizaje espacial al evaluarlos en el laberinto acuático de Morris. La rehabilitación de la actividad masticatoria, independientemente del medio ambiente, recuperó la pérdida de aprendizaje espacial, y una combinación del componente ambiental estimulante y rehabilitación masticatoria beneficiaron significativamente la recuperación del aprendizaje espacial tanto en ratones adultos y seniles.

Frota de Almeida, M., Chavez de Siqueira, F., Gurgel, A., Falsoni, M., Ferreira de Andrade, M., Bento-Torres, J., Da Costa, P., Perry, V., Picanço-Diniz, C., Kronka, M., (2012) estudiaron el efecto de la masticación sobre la memoria-aprendizaje espacial y sobre los astrocitos del CA1 del hipocampo, en 66 ratones hembras albinos Swiss. Los animales fueron divididos en 6 grupos, 3 que fueron alimentados con dieta en granos (HD) y 3 con dieta en polvo (SD), un grupo de cada tipo de dieta fue sacrificado a los 3 meses, 6 meses y 18 meses. Emplearon el test natatorio de Morris para evaluar memoria-aprendizaje espacial y el análisis estereológico para evaluar la distribución laminar de los astrocitos en CA1 del hipocampo. Los resultados mostraron diferencias significativas en el número total en CA1 en los grupos HD y SD a los 3 meses donde el grupo SD tuvo menor número de astrocitos ($23,839 \pm 653$) comparado con el grupo HD ($28,999 \pm 807$); sin embargo, no hubo diferencias significativas entre los grupos SD vs. HD a los 6 meses ($26,477 \pm 1572$ vs. $31,440 \pm 1613$) ni a los 18 meses ($31,901 \pm 2046$ vs. $27,780 \pm 1965$), respectivamente. Sobre la performance de los ratones en el laberinto acuático de Morris, en general, el grupo SD mostro peores resultados comparado con el grupo HD a los 6 meses; a los 18 meses ambos grupos experimentales mostraron declive de su memoria espacial. Concluyen que el deterioro encontrado en la memoria y aprendizaje espacial en los grupos SD puede

estar asociados con el envejecimiento en los hallazgos encontrados en los astrocitos en CA1.

Onyper, S., et al., (2011) estudiaron el efecto de la masticación de goma de mascar sobre las funciones cognitivas, sostuvieron 2 hipótesis, la primera fue que los participantes que masticaron goma de mascar por 5 minutos antes de la evaluación cognitiva tendrían una mejor performance que aquellos que no masticaron goma; la segunda fue que si la mejora cognitiva asociada a la masticación era evidenciada, esta mejora sólo sería vista en las pruebas que se hicieran inmediatamente después del cese de la masticación. El estudio fue dividido en 2 experimentos, en un primer experimento participaron 80 egresados de St. Lawrence University los cuales fueron divididos en 2 grupos iguales, uno consumió goma de mascar durante 5 minutos previo a las pruebas cognitivas y el otro, que fue el control, no consumió goma. Cada participante completo una batería de 5 test que medían memoria episódica, memoria de trabajo, velocidad de procesamiento perceptivo, velocidad motora, exploración visual, fluidez verbal y funcionamiento ejecutivo. Los resultados del primer experimento encontraron que quienes masticaron goma antes de iniciar las pruebas tuvieron una mayor performance que el grupo control, observándose que la mejora en el grupo que masticó goma fue, evidente, durante la primera parte de la batería de pruebas cognitivas. En el segundo experimento participaron 65 graduados de St. Lawrence University quienes no participaron en la primera experiencia. Fueron evaluados con la misma batería de pruebas cognitivas. Fueron divididos en 2 grupos, uno que masticó goma de mascar durante todos los test y el grupo control que no masticó goma. Los resultados de este experimento mostraron que no hubo diferencias significativas en los resultados de todos los test en ambos grupos de trabajo. Concluyen que hay fuerte evidencia que la masticación de goma de mascar está asociada con un incremento en las funciones cognitivas, particularmente en la memoria episódica, memoria de trabajo y velocidad de procesamiento perceptivo; pero solamente cuando la masticación tuvo lugar antes de las pruebas cognitivas (no durante ellas), y que los beneficios parecen ser de duración limitada.

Nader, I., Gittler, G., Waldherr, K., y Pietschnig, J., (2010) estudiaron el efecto de la masticación de goma de mascar sin azúcar sobre la habilidad en tareas espaciales, donde participaron 100 personas (media de la edad = 28.19) divididos aleatoriamente en 2 grupos iguales; empleando 21 ítems seleccionados del Endless Loops Test (ELT) que consta de 37 ítems. En cada ítem, 2 figuras del mismo bucle infinito eran presentadas simultáneamente, la segunda figura mostraba una vista girada del bucle, el participante debía decidir cuál dirección del giro del bucle responde al ítem propuesto correctamente, sentándose frente a una pantalla de computadora donde se les presentaban los ítems. Los participantes del grupo experimental recibieron una goma libre de azúcar inmediatamente antes de la administración del test ELT y fueron urgidos de masticar activamente la goma durante toda la prueba. Los participantes del grupo control no recibieron goma de mascar. En los resultados la media de la habilidad en el grupo experimental fue de 0.04 (que correspondió aproximadamente a la solución de 11.5 ítems); a su vez; la media de la habilidad del grupo control fue de 0.37 (que correspondió aproximadamente a la solución de 13 ítems). Concluyen que la evidencia encontrada sugiere que no hay efectos benéficos de la masticación de goma de mascar sobre el mejoramiento en las tareas espaciales en base al ELT.

Yamamoto, T., Hirayama, A., Hosoe, N., Furube, M., y Hirano, S., (2009) estudiaron el efecto de la alimentación con dieta blanda sobre la neurogénesis en el hipocampo de 60 ratones albinos, la hipótesis que sostuvieron fue que la reducción de la actividad masticatoria durante el desarrollo reduce el número de nueva generación de células en el giro dentado a los 3 y 6 meses de edad. Dividieron los animales en 6 grupos de 10 ratones cada uno, 3 recibieron dieta dura y 3 recibieron dieta blanda (granos pulverizados). Los 6 grupos fueron evaluados a los 3 y a los 6 meses de edad, recibiendo inyecciones intraperitoneales de bromodesoxiuridina (BrdU, 50mg/kg de peso), un marcador exógeno de proliferación celular, cada 12 horas por 3 días consecutivos. Se examinó la distribución de las estructuras-BrdU inmunoreactivas en el hipocampo utilizando microscopía. Dentro de los

resultados se detectaron células BrdU-positivas en el giro dentado, predominantemente en la zona subgranular a lo largo de la frontera entre la capa de células granulares y el hilio. Una reducción significativa en el número de células BrdU-positivas en los grupos de ratones con alimentación con dieta blanda fue reconocida en el giro dentado a los 3 y 6 meses de edad. Concluyen que los ratones alimentados con una dieta suave después del destete mostraron reducción en la neurogénesis en el hipocampo en comparación con los ratones alimentados con una dieta dura.

Yamamoto, T., Hirayama, A., Hosoe, N., Furube, M., y Shusuke, H., (2008) estudiaron el efecto de la alimentación con dieta blanda sobre la expresión del factor neurotrófico derivado del cerebro (BDNF) en el hipocampo de ratones, la hipótesis que sostienen es que la alimentación con dieta blanda durante el desarrollo reduce los niveles de BDNF en el hipocampo, lo que resulta en densidades sinápticas más bajas en esta región. Emplearon 60 ratones divididos en 6 grupos, 3 recibieron dieta dura (HD) y 3 recibieron dieta blanda (SD). Al mes, a los 3 meses y a los 6 meses fueron sacrificados 1 grupo HD y uno SD. Utilizaron análisis de Elisa e inmunohistoquímica para detectar BDNF; el análisis de BDNF con ELISA se realizó en el hipocampo y en la corteza cerebral a 1, 3 y 6 meses de edad. La alimentación blanda en el hipocampo, medido con ELISA, redujo significativamente la proteína BDNF en la formación del hipocampo a los 3 y 6 meses de edad. Mediante inmunohistoquímica, examinaron la distribución de BDNF en el hipocampo de los ratones a los 3 meses de edad. Se detectaron las estructuras BDNF-inmunoactivas en la capa de células granulares del giro dentado y en las capas de células piramidales de CA1 y CA3, tanto en el grupo de dieta dura y el grupo de dieta blanda. Se observó reducción de BDNF en el giro dentado y en las neuronas de CA3 del grupo SD comparados con el grupo HD. Concluyen que los ratones del grupo SD exhibieron niveles más bajos de BDNF y menor cantidad de densidades y conexiones sinápticas en el hipocampo comparado con los ratones del grupo HD.

Varios investigadores han informado que la disfunción masticatoria induce déficit en la memoria cognitiva espacial y una disminución en la proliferación celular y en algunos casos se ha reportado alteración en la neurogénesis del hipocampo; además, en ratas alimentadas con una dieta en polvo el hipocampo muestra una disminución de las actividades de entrada de las neuronas dopaminérgicas. Estos resultados sugieren que la alteración cognitiva y el deterioro de la actividad dopaminérgica, en el hipocampo, puede estar relacionada con la disfunción masticatoria inducida por la alimentación de una dieta blanda. Finalmente, hay reportes en humanos que muestran que masticar goma de mascar no tienen diferencias en sus efectos sobre la realización de tareas cognitivas; y que el cambio de la masticación hacia la succión, en el desarrollo de actividades cognitivas, no mejora o deteriora el recuerdo (Kushida, S., Kimoto, K., Hori, N., Toyoda, M., Karasawa, N., y Yamamoto. 2008; Overman, A., et al., 2009; Yoshino, F., Yoshida, A., Hori, N., Ono, Y., Kimoto, K., Onozuka, M., y Lee, M., 2012; Patten, A., Moller, D., Graham, J., Gil-Mohapel, J., y Christie, B., 2013).

2.3. Bases Teóricas

2.3.1. La Memoria y el Aprendizaje

Los procesos de aprendizaje y memoria han sido un permanente reto a la investigación en fisiología, neurología, psicología y en general en todas las ciencias que tienen que ver con el hombre (Oyuela, R., Lareo, L., Muñoz, L., Morales, L., Echeverry, S., y Uribe, A., 2004). El aprendizaje se conoce como un cambio más o menos permanente en el comportamiento que se produce como resultado de la práctica. El aprendizaje es una capacidad que en mayor o menor medida es poseída por todas las especies animales, ya que constituye un mecanismo fundamental de adaptación al medio ambiente. La adaptación de la conducta al ambiente está mediada por procesos perceptivos, cognitivos y de organización motora. El aprendizaje y la memoria

se cree que son un proceso continuo, siendo el aprendizaje la función cognitiva mediante la cual adquirimos conocimientos sobre el mundo, siendo la memoria el proceso por el cual el conocimiento del mundo es codificado, almacenado, y más tarde recuperado. Aunque algunas veces se utilizan como sinónimos, el aprendizaje es el proceso que modifica el comportamiento posterior, mientras que la memoria es la capacidad de recordar experiencias pasadas (Aguado-Aguilar, L., 2001; Sharma, S., et al., 2010)

Los procesos de aprendizaje y la experiencia propiamente dicha van modelando el cerebro que se mantiene a través de incontables sinapsis; estos procesos son los encargados de que vayan desapareciendo las conexiones poco utilizadas y que tomen fuerza las que son más activas. El ambiente afecta tanto la estructura del cerebro como su funcionalidad; un ambiente apropiado es esencial para conformar partes sustanciales del mismo. Las sinapsis habilitadas se refuerzan o se debilitan a través del desarrollo por medio de nuevos estímulos, vivencias, pensamientos y acciones; esto es lo que da lugar a un aprendizaje permanente. Cualquier reorganización relacionada al aprendizaje comienza con la plasticidad sináptica (los cambios en la estructura o en la bioquímica de las sinapsis que alteran sus efectos post-sinápticos, se considera como el mecanismo celular subyacente tanto en los procesos de aprendizaje como de memoria) que es inducida en subconjuntos de sinapsis y neuronas preexistente en el momento de la adquisición del aprendizaje y que esencialmente comprende cambios y conexiones: la liberación de neurotransmisores en la sinapsis puede alterarse, o las conexiones entre neuronas pueden reforzarse o debilitarse. Se ha encontrado que la dopamina está involucrada en mejorar la plasticidad en todos los sistemas implicados en el aprendizaje (Sharma, S., et al., 2010; Caroni, P., Chowdhury. A., y Lahr, M., 2014)

La transmisión de dopamina hacia la corteza prefrontal lateral parece ser relevante en las funciones cognitivas relacionadas con el aprendizaje. Hacia la corteza prefrontal (PFC) lateral llega inervación por medio de neuronas dopaminérgicas (DA) originarias del área tegmental ventral (VTA) y de la pars

compacta de la sustancia negra (SNc). Se ha visto que las neuronas dopaminérgicas provenientes de SNc y de VTA, que se proyectan hacia PFC lateral, aumentan la actividad neuronal con firmeza durante las tareas que requieren un nuevo aprendizaje. Es probable que las neuronas DA que codifican motivación relevante sean responsables de esto, ya que las subpoblaciones de neuronas en PFC lateral son excitadas por señales visuales de recompensa y de aversión. Por otra parte, investigaciones recientes han demostrado que la PFC y los receptores de dopamina tipo 1 y 2, desempeñan funciones complementarias en el aprendizaje asociativo, la flexibilidad cognitiva y la motivación. Por lo tanto, la asociación de la función de la PFC lateral por acción de la dopamina parece ser crucial para el aprendizaje; destacando que los receptores de dopamina son necesarios para generar y refinar la representación de un estímulo en la memoria de trabajo, que apunta a un mecanismo celular de acción común del sistema dopaminérgico en la PFC lateral durante las funciones ejecutivas (Puig, M., y Miller, E., 2012; Puig, M., Antzoulatos, E., y Miller, E., 2014).

La memoria puede ser dividida en memoria de corto plazo (memoria de trabajo) y memoria de largo plazo. La memoria de corto plazo tiene una capacidad limitada y dura sólo por un período de varios segundos a un minuto. En contraste, la memoria de largo plazo puede almacenar grandes cantidades de información que potencialmente tiene duración ilimitada. La memoria de largo plazo es dividida en declarativa (explícita) y la memoria no declarativa (implícita). La memoria declarativa responde a la pregunta: “¿qué?”, e incluye conocimiento y el significado de hechos tales como lugares, cosas y personas. La memoria declarativa se puede subdividir en memoria episódica, que es la experiencia personal específica de un evento enfocado a un contexto particular, como el tiempo y lugar; y la memoria semántica, que consiste en el conocimiento de hechos que tienen independencia del contexto en el que se aprendieron. La más importante estructura cerebral implicada en la memoria declarativa es la formación hipocámpal, además de áreas de asociación corticales (corteza entorrinal, giro parahipocámpal) y amplias áreas de la

corteza de asociación neocortical (Aguado-Aguilar, L., 2001; Sharma, S., et al., 2010; Krebs, C., Weinberg, J., y Akesson, E., 2012).

La formación de nueva memoria declarativa es un proceso secuencial, donde están involucrados varios pasos: la adquisición de nueva información (codificación), la conservación de dichos conocimientos (almacenamiento o retención) y la posibilidad de traer nuevamente al presente la información almacenada (recuperación); estando los recuerdos continuamente consolidados en el neocortex. La memoria implícita o no declarativa, por otro lado, responde a la pregunta: “¿cómo?”. Se refiere a la adquisición de habilidades motoras y de hábitos, procesos que están mediados por el cuerpo estriado y por el cerebelo. Además, la amígdala media los procesos de memoria de naturaleza emocional y ha sido demostrado que está involucrada, también, en la consolidación de la memoria. (Sharma, S., et al., 2010).

La memoria depende de la participación de un conjunto de neuronas, encargadas del procesamiento de diferentes tipos de información, formando sistemas especializados en cada tipo de información y que guardan el producto de este. La memoria de largo plazo depende de un cambio a nivel sináptico de un conjunto de neuronas repartidas que pertenecen a un conjunto diferente de procesamientos, el fortalecimiento de algunas conexiones neuronales se lleva a cabo por las reflexiones sinápticas del ensayo, reaprendizaje y olvido normal, dando como resultado un remodelado de los circuitos nerviosos que originalmente representaban la información almacenada (Oyuela, R., et al., 2004).

2.3.1.1. Rol Central de la Formación Hipocampal en la Memoria y el Aprendizaje.

La formación hipocampal es una lámina curvada de corteza que está plegada en la superficie medial del lóbulo temporal, ocupando el piso del ventrículo lateral. La formación hipocampal consta de tres partes mayores: el giro dentado (DG), el hipocampo propiamente dicho (cuerno de Ammon, que presenta tres áreas signadas como CA1, CA2 y CA3) y el subiculum. La corteza que forma la formación hipocampal tiene una

aparición de tres capas. La primera capa es profunda y comprende una mezcla de fibras aferentes, eferentes e interneuronas. En el giro dentado esta capa se llama el hilio. Superficial a esta capa polimorfa se halla una que se compone de células principales e interneuronas; en el giro dentado esta capa de células se llama la capa granular, mientras que en las regiones del hipocampo propiamente dicho y el subiculum se conoce como la capa de células piramidales (estrato piramidal). La capa más superficial se denomina la capa molecular (el estrato molecular) en el giro dentado y el subiculum. En la región del hipocampo propiamente dicho, la capa molecular se subdivide en un número de subcapas. En CA3, se distinguen tres sub-capas: el estrato lucidum, que recibe aferentes del giro dentado; el estrato radiatum, que comprende las dendritas apicales de las neuronas localizadas en el estrato piramidal; y, más superficialmente, el estrato lacunosum-moleculare. Las principales aferentes hacia el hipocampo se originan en la corteza entorrinal. En el hipocampo, el giro dentado se proyecta hacia CA3. CA3 se proyecta hacia sí misma a través de conexiones recurrentes, así como hacia CA1, a través de las fibras colaterales de Schaffer. Las principales vías de eferentes de la formación hipocámpal se originan desde CA1 y del subiculum, y finalizan en la corteza entorrinal, la cual tiene conexiones recíprocas con amplias áreas de asociación de la corteza cerebral (Van Strien, N., Cappaert, N., y Witter, M., 2009; Sharma, S., et al., 2010; Krebs, C., et al., 2012; Allen, T., y Fortin, N., 2013, Aguirre, E., y Granados, S., 2015).

La formación hipocámpal se ha identificado en muchas especies, incluyendo mamíferos, aves, reptiles, y los peces teleósteos. La evidencia neurobiológica y funcional sugiere fuertemente que la formación hipocámpal es una estructura homóloga a través de las especies; así en los mamíferos está notablemente conservada tanto en los seres humanos, primates no humanos, cerdos, roedores, y murciélagos. El hipocampo es crítico para la memoria espacial en ratas, primates y en los seres humanos. Por otra parte, los estudios neurofisiológicos han identificado neuronas del hipocampo que codifican lugares específicos en un entorno (células de

lugar) en roedores, primates y seres humanos, así como en los murciélagos (Allen, T., y Fortin, N., 2013).

Durante años, se ha sospechado que el cerebro absorbe nueva información simplemente ajustando la fuerza de los enlaces entre las neuronas. Uno de los aminoácidos más importantes a nivel excitatorio del encéfalo es el glutamato. La mayor parte de este aminoácido es tomado por la neuroglia, convertido a glutamina y transportado nuevamente a las neuronas glutaminérgicas. La mayoría de los receptores que median las acciones del glutamato son diferentes, pero los que se encuentran en mayor cantidad son los receptores tipo canal iónico: N-metil D-aspartato (NMDA) y α -amino-3-hidroxil-5-metil-4-isoxazol-propionato (AMPA) (Oyuela, R., et al., 2004).

Diversos estudios sugieren que los procesos moleculares implicados en el aprendizaje y la memoria son similares a la potenciación a largo plazo (LTP) descrita por Bliss y Lomo (1973) que encontraron, en el hipocampo de conejos, que al estimular la vía perforante (entre la corteza entorrinal y el giro dentado) con una corta serie de estímulos eléctricos de alta frecuencia, se obtenía un incremento estable y duradero en las respuestas postsinápticas en las células granulosas del giro dentado. LTP en el hipocampo es la forma de plasticidad sináptica más estudiada (Lu, Y., Christian, C., y Lu, B., 2008; Sharma, S., et al., 2010).

En la LTP como en el almacenamiento de la memoria, están implicadas 2 fases: una fase temprana (E-LTP, referida, en general, que se da en menos de 1 hora después de la estimulación) que no requiere de síntesis proteica ni transcripción génica; y una fase tardía (L-LTP, referida, en general, que se da por encima de las 3 horas después de la estimulación) que involucra síntesis proteica y transcripción génica. La fase E-LTP, involucra modificaciones en sinapsis pre-existentes como resultado del ingreso de calcio al citosol y subsecuentes eventos de fosforilación proteica. En contraste la fase L-LTP requiere activación de la Proteinquinasa A dependiente de AMPc y la transcripción del factor CREB. La fase L-LTP

está asociada con el crecimiento y remodelación en la densidad postsináptica, con el crecimiento en las espinas sinápticas preexistentes y con la formación de nuevas sinapsis (Lu, Y., et al., 2008, Sharma, S., et al., 2010; Panja, D., y Bramham, C., 2014).

Se ha encontrado que el receptor de NMDA es crítico para la LTP relacionados directamente con el almacenamiento de memoria. La activación del receptor NMDA permite el ingreso del calcio extracelular al interior de la neurona postsináptica. El calcio citosólico activa proteínas quinasas como la calcio/calmodulina proteína quinasa II, luego está enzima activa al receptor AMPA, el cual incrementa la conductancia de Na y K seguido por el aumento de la capacidad de respuesta al glutamato. Además, el ingreso del calcio permite la activación de la adenilciclase, la cual a su vez activa al AMPc, que a su vez activa la enzima proteinkinasa A, la cual permite la fosforilación del factor de transcripción de elementos de respuesta al AMPc (CREB). Son varios los genes regulados por CREB, estos incluye: c-fos, egr-1, nNos, somatostatina, entre otros, destacando el factor neurotrófico derivado del cerebro (BDNF) (Sharma, S., et al., 2010; Panja, D., y Bramham, C., 2014).

El factor neurotrófico derivado del cerebro (BDNF) es una proteína dimérica, que ha emergido como un factor crítico en el desarrollo sináptico y la plasticidad en el SNC. EL BDNF tiene alta afinidad con el receptor tirosinkinasa TrkB (tropomiosina relacionada con la quinasa B). BDNF y TrkB están ampliamente distribuidos a través de subregiones en el hipocampo y en el prosencéfalo. Las vesículas secretoras que contienen BDNF están presentes juntamente en terminales axónicas (ubicación presináptica) y dendritas (ubicación postsináptica) de células piramidales y granulares de neuronas principales de tipo glutaminérgico. BDNF está involucrado en la formación de diferentes tipos de memoria y además tiene un rol crítico en el mantenimiento de la memoria a largo plazo en el hipocampo, amígdala y corteza insular muchas horas después de haber

ocurrido el aprendizaje (Lu, Y., et al., 2008; Bekinschtein, P., Cammarota, M., Medina, J., 2014; Panja, D., y Bramham, C., 2014).

Se ha encontrado que la acetilación/desacetilación de histonas juega un paso crítico en la modulación de los procesos mediados por el BDNF. Cambios en los diferentes residuos de histonas de la región promotora del gen de BDNF ocurren mediante la vía de activación de los receptores NMDA. La metilación del gen BDNF es un paso importante en el control epigenético de la transcripción de este factor neurotrófico (Bekinschtein, P., et al., 2014).

Como ya se señaló, el sistema dopaminérgico juega un rol clave en el control del aprendizaje así también en el almacenamiento de la memoria. La dopamina proveniente desde VTA controla el almacenamiento de la memoria a través de la expresión de BDNF en el hipocampo. La secreción del BDNF juega un rol crítico al estimular la formación de L-LTP en las sinapsis glutamérgicas en distintas áreas del cerebro. El BDNF es liberado en respuestas a estímulos como ocurre en la generación de LTP. Hay evidencia anatómica y funcional que sugiere un almacenamiento y liberación pre y postsináptica de BDNF en sinapsis glutamérgicas (Panja, D., y Bramham, C., 2014; Bekinschtein, P., et al., 2014).

2.3.1.2. Memoria Espacial en el Envejecimiento y en el Aprendizaje en Humanos y Animales. Por lo general, la memoria espacial se conceptualiza como un subtipo de memoria episódica, siendo la memoria episódica un tipo de memoria declarativa y que depende de la capacidad de recordar en un determinado contexto temporal y espacial ya que almacena la información en el marco espacio-tiempo. En contraste con la memoria de trabajo de corto plazo, la memoria de referencia espacial tiene más capacidad, dura más y resiste la interferencia. Nadel y O'Keefe (1978) en su teoría del mapa cognitivo sugiere que la memoria espacial depende del hipocampo. Había dos líneas de evidencia que sugieren que esto es así. La primera se refiere al más famoso paciente amnésico HM de finales

de década de 1950. Esta persona tenía un grave deterioro en la adquisición de nueva memoria después de que el lóbulo temporal medio fue removido quirúrgicamente. La otra evidencia fue el descubrimiento de las células de lugar. Las células de lugar son las neuronas que se activan dependiendo del lugar del animal en el medio ambiente, independiente de cualquier estímulo particular o comportamiento en curso. Recientemente, el concepto de mapeo cognitivo ha dado un paso más para describir la función del hipocampo en la construcción de imágenes mentales (Sharma, S., et al., 2010).

La mayoría de los animales se orientan en el espacio para organizar sus conductas en relación con el entorno en que se encuentran en cada momento. La navegación espacial es importante para muchos de los repertorios conductuales de los animales: búsqueda de comida, conducta parental y reproductiva, regreso al nido o huida a un lugar seguro. El aprendizaje espacial se relaciona con la capacidad de adquirir y retener asociaciones de las características del ambiente, lo que permite al organismo desenvolverse en el espacio. La memoria espacial consiste en múltiples mecanismos especializados en codificar, almacenar y recuperar información acerca de rutas, configuraciones y localizaciones espaciales (Vicens, P., et al., 2003).

La memoria y el aprendizaje espacial pueden ser evaluados mediante modelos animales en los que la solución de la tarea depende de la información espacial disponible. Los roedores pueden adoptar cuatro formas principales de navegación para la resolución de tareas espaciales: orientación, guía, cartográfica e integración de la ruta. En el aprendizaje de orientación los animales basan su búsqueda en movimientos aprendidos durante la ejecución de la tarea; en el aprendizaje de guía aprenden asociaciones entre los estímulos de señal y la meta. Estas dos formas de navegación se explicarían mediante paradigmas asociativos de condicionamiento. El aprendizaje cartográfico, sin embargo, implica el uso de señales distales con las que los animales forman una representación de

su entorno (mapa cognitivo) mediante el que localizan la meta. Por último, la integración de la ruta consiste en un proceso de actualización de la información cuando las pistas ambientales no ofrecen lo suficiente, mediante un sistema interno de referencia basado en el lugar de salida antes de iniciar la navegación, para lo que el animal podría utilizar principalmente pistas cinestésicas y señales vestibulares. Estas estrategias de navegación espacial parecen depender de distintos sistemas de memoria. Por ejemplo, en el laberinto de agua las ratas tienden a aproximarse a la plataforma sumergida desde una dirección conocida, sugiriendo la utilización de representaciones específicas para reconocer su localización, lo que implicaría establecer las relaciones entre los distintos estímulos (Vicens, P., et al., 2003).

Las personas mayores son más susceptibles a olvidar el contexto relacionado a un evento episódico que el evento en sí. Ha sido demostrado que las personas mayores realizan adecuadamente las tareas de memoria que requieren menos esfuerzo, al igual que en las tareas de memoria implícita que requieren de ellos el repetir o reconocer un estímulo. Pero, su rendimiento disminuye si tienen que recordar o recuperar la información retenida en su mente o llevar a cabo algunas acciones sin recordatorios. Los animales viejos adquieren la mayoría de las tareas espaciales más lentamente que los jóvenes. No obstante, existe gran variabilidad interindividual, ya que algunos animales viejos aprenden esta tarea tan eficientemente como los jóvenes, mientras otros muestran marcado deterioro. La alteración de los mecanismos de plasticidad sináptica del hipocampo podría ser una de las causas del deterioro espacial observado en el envejecimiento. El paradigma de navegación espacial parece ser un modelo apropiado para evaluar tales déficits, ya que las representaciones del entorno dependen en gran medida de un funcionamiento hipocampal eficiente, el cual puede verse deteriorado en el proceso de envejecimiento en humanos y animales. Adicionalmente, la desregulación en los mecanismos de expresión del BDNF parecen ser relevante en los procesos naturales de disminución de la memoria, lo cual es típico del envejecimiento

y se exacerba en algunos desordenes neurodegenerativos. (Vicens, P., et al., 2003; Sharma, S., et al., 2010; Bekinschtein, P., et al., 2014; Aguirre, E., y Granados, S., 2015).

Confirmando la importancia del hipocampo en los procesos de memoria y aprendizaje espacial, fue evaluado las variaciones en su volumen comparando taxistas licenciados con no taxistas y con choferes de autobuses, dentro de una representación espacial de un entorno de gran escala altamente complejo como es la ciudad de Londres. Se encontró que el hipocampo se modificó de tal manera que su volumen en la región posterior aumento en el grupo de taxistas, demostrando que los humanos tienen una asombrosa capacidad para adquirir y utilizar su orientación espacial en entornos complejos; siendo además el grupo de taxistas el que, en base a pruebas neuropsicológicas empleadas, pudo identificar mejor diversos puntos de referencia dentro de la ciudad de Londres y en conocer sus relaciones comparado con el grupo de conductores de autobús (Maguire, E., Gadian, D., Johnsrude, I., Good, C., Ashburner, J., y Frackowiak, R., 2000; Maguire, E., Woollett, K., y Spiers, H., 2006).

2.3.2. El Sistema Estomatognático y la Masticatoria

El sistema estomatognático es una unidad morfofuncional o sistema biológico, que se encuentra localizado anatómicamente en el territorio cráneo-cervico-facial. Su delimitación anatómica comprende, en forma aproximada, un plano frontal que atraviesa las apófisis o procesos mastoides del hueso temporal y dos líneas horizontales que pasan, una por los rebordes supraorbitarios y otra a nivel del hueso hioides. Su nombre proviene del griego: stoma=boca o cavidad oral y gnatos=mandíbula, es decir, comprende básicamente las estructuras combinadas de la boca y los maxilares. Es responsable primariamente de las funciones de masticación, deglución y fonoarticulación. No obstante, sus componentes desempeñan también un rol importante en la funciones de degustación y respiración (Simoes, W., 2003; Planas, P., 2008; Manns, A., et al., 2013.).

La masticación es una de las funciones primarias del sistema estomatognático y se define como la suma de los ciclos masticatorios (un ciclo masticatorio es cada golpe con puntos de inicio y final en la posición de máxima intercuspidad interdentaria) necesarios y suficientes para reducir todo el alimento a un tamaño y una forma adecuado que posibiliten, a través de las degluciones sucesivas, consumirlo completamente; Envuelve una serie de procesos biológicos neurales, químicos y evolucionarios dependiente del crecimiento y del desarrollo (Simoès, 2004). Siendo una función condicionada, adquirida, automática y esencialmente involuntaria; sin embargo, pueda ser fácilmente sometida bajo control consciente, y experimenta cambios adaptativos durante el transcurso de la vida del sujeto (Manns, A., et al, 2013).

La excitación neural que proporciona la función masticatoria sólo se produce y recibe aproximadamente una hora al día (suma total de masticaciones en un día). Durante la hora de funcionamiento intenso en el ejercicio masticatorio, las distintas estructuras involucradas se emplean a fondo y la calidad de dicha función y la excitación que ella produce a las vías neuronales depende en última instancia de la naturaleza del alimento empleado en el acto masticatorio (Planas, 2008). Además, la comida blanda disminuye la solicitud de movimientos horizontales (los movimientos masticatorios que producen mayor estímulo sensorial), la seca y dura la aumentan (Simoès, W., 2004).

La tomografía por emisión de positrones y la resonancia magnética funcional (fMRI) muestran un aumento del flujo sanguíneo en los lóbulos frontales y parietales inferiores bilaterales durante la masticación de goma de mascar y activación generalizada en varias áreas de la corteza somato sensorial, motora suplementaria y la corteza insular, así como en el cuerpo estriado, tálamo, y el cerebelo (Kubo, K., et al., 2010).

2.3.2.1. Masticación Normal y Masticación Deficiente. El concepto de masticación normal se refiere a la realización eficiente del ciclo masticatorio y que depende de la actividad y fuerza de los músculos masticatorios, los movimientos de la mandíbula, la condición de la dentición, y la sincronía y la coordinación de la lengua, las mejillas y los músculos de los labios. Dicho acto se debe realizar de forma alternada (derecha e izquierda o viceversa) donde los puntos de contactos deben estar balanceados en toda la oclusión dentaria. El tiempo que se dedique al proceso masticatorio (cantidad de ciclos masticatorios) determina la eficacia del mismo y dicho tiempo puede ser modificado dependiendo de la dureza del alimento (Okeson, J., 2008; Quintero, A., 2012). Todos estos contactos durante la masticación condicionan el uso y el desgaste natural, las cúspides van desapareciendo, las coronas toman formas menos sinuosas, pero no por ello la eficiencia de la función masticatoria disminuye, ella se mantiene; dichos desgastes fisiológicos condicionan que lo considerado normal en la oclusión dentaria en un niño de 3 años es patológico a los 5 años, lo normal a los 15 será patológico a los 25, lo normal a los 30 será patológico a los 60, donde lo completamente normal a esta edad son dientes con abrasiones fisiológicas equilibradas en ambos lados de las arcadas dentarias (Simoes, W., 2003; Planas, P., 2008).

El concepto de masticación deficiente se refiere a la alteración en los factores, que fueron descritos en el párrafo anterior, que interfieren con un eficiente ciclo masticatorio. Además, es importante resaltar que las personas pueden tener potencialmente todos los factores adecuados para realizar una masticación normal (eficiente) pero la alimentación “civilizada”, con sus biberones, papillas, croquetas, hamburguesas, etc.; que ciertamente satisface las necesidades nutritivas del niño y del adulto, pero de ninguna manera produce la estimulación neural adecuada en el aparato masticatorio y en última instancia desde el aparato masticatoria hacia el sistema nervioso central (Planas, P., 2008; Ono, Y., et al., 2010).

2.3.2.2. Neurogénesis de la Masticación. Actualmente, la masticación se explica a través de una teoría mixta (centro generador más su retroalimentación sensorial) donde los patrones intrínsecos de los movimientos masticatorios rítmicos (mandibulares-linguales-periorales) y usualmente automáticos, se originan de una red neuronal denominada generador central de patrones masticatorios (GCP) ubicada a nivel pontino medio hasta bulbar alto del tronco encefálico (núcleo reticularis pontis caudalis y sistema reticular medial bulbar alto), y que es modulado tanto por la información sensorial que se desencadena durante el acto masticatorio así como por aquella información superior proveniente de la corteza sensorio-motriz, ganglios basales y otras áreas motoras subcorticales. Expresado en otros términos, la información eferente del GCP es modificada y modulada por las aferentes que provienen desde centros motores superiores y por la retroalimentación sensorial de diversos receptores (receptores táctiles intraorales, husos musculares de los músculos elevadores y mecanorreceptores periodontales), siendo la contribución de los receptores periodontales la fuente más importante en la retroalimentación sensorial, ya que ellos monitorean la mayor parte de la actividad de los músculos elevadores mandibulares (Türker, K., 2002; Manns, A., et al, 2013).

Es importante consignar que la corteza motora en conjunto con otras estructuras subcorticales no solamente inicia y detienen la masticación, sino que también entregan movimientos pre-programados dependiente tanto de las expectativas motivacionales (sistema límbico) como de la percepción de las propiedades sensoriales de los alimentos (Manns, A., et al, 2013).

2.3.2.3. Los Posibles caminos desde la Cavidad Oral hacia el Hipocampo. Los detalles de las vías aferentes nerviosas de la cavidad oral hacia el hipocampo no están completamente aclarados, aunque la masticación y las maloclusiones afectan claramente al SNC. Hasta la fecha, la interacción directa entre la cavidad oral y el hipocampo no se ha

demostrado. Sin embargo, hay posibles vías: neuronales y humoral. El sistema sensorial del nervio trigémino conduce la información sensible de la cavidad oral hacia el SNC. Las neuronas sensoriales primarias del trigémino tienen perfiles únicos en comparación con otras neuronas sensoriales. Los cuerpos celulares sensoriales primarios trigeminales se localizan no sólo en el ganglio trigeminal, que es equivalente a los ganglios espinales, sino también en el núcleo del trigémino a nivel mesencefálico dentro del SNC. La información propioceptiva de la función masticatoria se transmite al SNC a través de los cuerpos celulares del ganglio trigeminal y del núcleo mesencefálico del trigémino. En general, los axones centrales del ganglio trigeminal llegan al núcleo sensorial del trigémino, al núcleo espinal y al núcleo sensorial principal del V par craneal, terminando las neuronas mesencefálicas trigeminales sobre las regiones supra e intertrigeminal y el núcleo motor del trigémino, los cuales son responsables de la masticación voluntaria. Adicionalmente, estas neuronas sensoriales primarias mesencefálicas proyectan sus fibras aferentes hacia el núcleo sensorial trigeminal, el cerebelo, el núcleo del hipogloso y a la formación reticular del tronco cerebral. Esta formación reticular se cree que regula o controla las aferentes sensoriales hacia los centros superiores como un sistema activador reticular ascendente. La formación reticular y el sistema activador reticular ascendente son necesarios para la estimulación del cerebro para la atención, la percepción y el aprendizaje consciente. Por lo tanto, las aferentes sensoriales de la cavidad oral puede influir sobre el aprendizaje (Ono, Y., et al., 2010).

La información sensorial de las neuronas sensoriales secundarias situada en el núcleo sensorial del trigémino llega al tálamo contralateral (principalmente al núcleo talámico postero-ventral y escasamente al núcleo talámico posterior y al núcleo talámico medial). Adicionalmente a estas proyecciones, las neuronas sensoriales secundarias también envían sus ramas a la formación reticular y al hipotálamo. Las aferentes sensoriales del trigémino llegan al hipocampo a través de conexiones corticales. Las fibras nerviosas llevan la información de la cavidad oral desde el núcleo

talámico postero-ventral terminando sobre la corteza somatosensorial ipsolateral. La corteza somatosensorial recibe aferentes desde la corteza homónima contralateral a través del cuerpo calloso y la corteza motora primaria ipsolateral. A su vez, las neuronas de la corteza somatosensorial proyectan sus axones hacia el núcleo talámico postero-ventral ipsolateral, la corteza parietal inferior y el área de asociación somatosensorial. Esta última área de asociación tiene proyecciones recíprocas con la corteza entorrinal. La corteza entorrinal es la mayor fuente de información aferente hacia la formación hipocampal. De este modo, las sensaciones en la cavidad oral pueden influir en las funciones del hipocampo a través del tálamo y de la corteza. También es posible que la masticación afecte las funciones hipocampales a través de la formación reticular incluso sin la participación del hipotálamo (Ono, Y., et al., 2010).

Adicionalmente, se ha propuesto que las vías humorales involucradas están relacionadas con varios factores de crecimiento como el factor de crecimiento nervioso (NGF) y el factor de crecimiento epidermal, los cuales son producidos, entre otros lugares, en las glándulas salivales y la masticación incrementa su secreción. La maloclusión puede cambiar los niveles de secreción de estos factores de crecimiento. Se cree que el NGF no traspasa la barrera hematoencefálica, pero se ha reportado que la inyección subcutánea de NGF incrementa los niveles de noradrenalina en el cerebro. Interesantemente, la permeabilidad a NGF en el hipocampo, aunque mucho menor que la insulina, es alta en comparación con otras áreas del cerebro como son la corteza y el tallo cerebral, sugiriendo la presencia de un específico mecanismo de ingreso del NGF al hipocampo. En cualquier caso, no se puede excluir una posible conexión entre la cavidad oral y el hipocampo a través de las secreciones de factores de crecimiento desde las glándulas salivales (Ono, Y., et al., 2010).

En conclusión, los efectos de la masticación sobre el SNC no pueden ser atribuidos a una simple vía, sino a múltiples y complejas señales que aún están proceso de entendimiento (Ono, Y., et al., 2010).

2.3.2.4. Integración de los Conceptos de Masticación y Función Hipocampal en la Fisiopatología Humana.

El deterioro de la masticación es considerado como un factor de riesgo epidemiológico para la enfermedad de Alzheimer y la salud sistémica. Además, el cambio de la alimentación por sonda a la alimentación oral masticatoria conduce a un aumento en la motivación y a niveles más altos de habilidad diaria en pacientes de edad avanzada; en cambio, la disminución de la función masticatoria tiene efectos contrarios. Estos hallazgos sugieren que la función masticatoria tiene un papel importante en la prevención de la demencia senil y trastornos relacionados con el estrés, que a menudo se asocia con disfunción cognitiva tales como deterioro de la memoria espacial y la amnesia. Investigaciones y revisiones se centran en el rol crítico que juega el hipocampo en el aprendizaje y la memoria, enfocándose en el efecto que la función masticatoria origina sobre dicha estructura (Kubo, K., et al., 2010; Frota de Almeida, M., et al., 2012).

La privación masticatoria en ratones parece afectar principalmente la función hipocampal en diversos grupos etarios, los desequilibrios masticatorios muestran una disminución en el número de neuronas y un aumento del número de astrocitos hipertróficos. Todos estos cambios parecen agravarse por el envejecimiento y por el tiempo después de la pérdida de dientes lo que sugiere efectos aditivos (Frota de Almeida, M., et al., 2012).

De acuerdo a lo expuesto, la evidencia sugiere que la adecuada masticación es uno de los factores que influye en el óptimo mantenimiento de las funciones cognitivas de memoria y aprendizaje (Aguirre-Siancas, E., 2014).

2.3.3. Los ratones BALB/c

Los ratones de la cepa BALB/c son una de las líneas de roedores más empleados como consta en las diferentes investigaciones que se hacen en el mundo científico (Nelson, K., Marks, N., Heyen, J., y Johnson, R., 1999; Kohman, R., Crowell, B., y Kusnecov, A., 2010; Kou, Z., Zhang, Y., Zhang, T., Li, H., y Li, Y., 2011; Demirci, D., Mutlu, O., Akar, F., Celikyurt, I., y Ulak, G., 2014). Estos ratones son destetados a las 3 semanas de edad adquiriendo su madurez sexual entre los 6 a 8 semanas de nacidos, variando su esperanza de vida entre 1 a 3 años. (Benavides, J., y Guénet, J., 2003; Gad, S., 2007; Fuentes, F., Mendoza, R., Rosales, A., y Cisneros, R., 2008). No es posible categóricamente clasificar a los ratones en relación a su edad con su respectivo grupo etario, pues esto varía como consta en diferentes reportes publicados en bases de datos reconocidas como Medline y Scopus, así: Choi, K., y Sauder, D., (1987) categoriza para su estudio a los ratones BALB/c en jóvenes a los que tenían entre 10 a 12 semanas de nacidos y en seniles a los que tenían 18 meses de edad. Chen, J., Astle, C., y Harrison, D., (1999) nombra a los ratones BALB/c en jóvenes a los que tenían de 4 a 6 meses de nacidos. Nelson et al, 1999, clasifica a los ratones BALB/c en adultos a los que tenían entre 3 a 5 meses de edad y seniles a los que tenían entre de 22 a 24 meses. Kohman, R., et al., (2010) para su investigación clasifica a los ratones BALB/c en jóvenes a los que tenían 4 meses de edad y adultos (mediana edad) a los de 12 meses. Kou, Z., et al., (2011) define a los ratones BALB/c en jóvenes a los de 2 meses de nacidos, adultos a los de 8 meses y seniles a los de 24 meses. Demirci, D., et al., (2014) define a los ratones BALB/c en jóvenes a los de 2 meses de edad y seniles a los que tenían 9 meses de edad. Finalmente, Birmingham, J., Gillespie, V., Srivastava, K., Li, X., y Busse, P., (2014) nombra a los ratones BALB/c en jóvenes a los de 6 semanas de nacidos y seniles a los de 18 meses. En base a todos estos reportes y más inclusive, en la presente investigación la categorización (eminentemente aproximativa, en base a lo referido líneas arriba) será: ratones jóvenes desde la semana 6 hasta los 4 meses y 15 días de edad; ratones adultos desde los 4 meses y 16 días hasta los 8 meses de edad y

ratones seniles a partir de los 8 meses y 1 día de edad, considerando que el tiempo de vida de la cepa utilizada es entre 1 a 2 años.

2.3.3.1. Paradigmas para Modificar la Función Masticatoria en Roedores. Para investigar el impacto de los desequilibrios masticatorios sobre diversas actividades y factores fisiológicos en animales de experimentación, se emplean diversos diseños experimentales de modificación de la función masticatoria como: extracciones de piezas molares o alteración de la armonía oclusal, siendo la modificación de la dieta (*dieta dura en granos vs dieta blanda, que es la dieta dura pulverizada*) el paradigma más empleado desde hace muchas décadas para modificar el tipo de masticación (Barber, Ch., Green, L., Cox, G., 1963; Moore, W., 1965; Beecher, R., Corruccini, R., 1981) dado su gran factibilidad y siendo además un procedimiento no invasivo para el animal. Resaltando que el tipo de masticación (normal o eficiente vs deficiente) está determinado directamente por la cantidad de ciclos masticatorios lo cual depende, principalmente, de la consistencia (dura o blanda) del alimento empleado (Okeson, J., 2008; Quintero, A., 2012).

2.3.3.2. Paradigmas Empleados en la Evaluación de la Memoria y Aprendizaje Espacial: el laberinto acuático de Morris. Para la evaluación de la memoria y aprendizaje espacial se emplean varios paradigmas como el laberinto en T, el laberinto de brazos radial, el laberinto de Barnes, el laberinto de quesos y el laberinto acuático de Morris, entre otros; todos presentan beneficios y limitaciones, siendo el laberinto acuático de Morris uno de los que permite una precisa y reproducible evaluación de la memoria y aprendizaje espacial, demostrando ser muy sensible en la evaluación de los daños en el hipocampo. (Vicens, P., et al., 2003; Vorhees, C., Williams, y M., 2006; Sharma, S., et al., 2010; Frota de Almeida, M., et al., 2012).

El laberinto acuático de Morris es una prueba utilizada para evaluar la memoria espacial dependiente del hipocampo (Ono, Y., et al., 2010; Frota de Almeida, M., et al., 2012).

El laberinto acuático fue desarrollado por el Dr. Richard Morris de la Universidad de Edimburgo, siendo diseñado y descrito en su forma básica en 1984 y, posteriormente, se añadieron detalles para la evaluación de formas conexas de aprendizaje y memoria. Varias características han contribuido al uso frecuente de esta prueba. Estas incluyen la no necesidad de un complejo pre-entrenamiento para su uso, su alta fiabilidad a través de una amplia gama de configuraciones del tanque y procedimientos de prueba, su utilidad en especies cruzadas (ratas y ratones), amplia evidencia de su validez como una medida de la navegación espacial referida a la memoria dependiente del hipocampo y su especificidad para evaluar aprendizaje adquirido. La mayor ventaja es que el uso del agua en este laberinto elimina la posibilidad de que los animales usen las señales aromáticas para orientarse en la búsqueda de escape, un posible factor de confusión que se produce en los laberintos secos (Vicens, P., et al., 2003; Vorhees, C., Williams, y M., 2006; Sharma, S., et al., 2010).

En general, el “Laberinto Acuático de Morris” (o *Morris-Water-Maze*) consiste en una piscina circular cuyo diámetro, para ratones, se encuentra en la literatura científica desde los 60 centímetros (Kitanaka, J., Kitanaka, N., Hall, F., Fujii, M., Goto, A., Kanda, Y., 2015; Dhingra, D., y Kumar, V., 2012). En dicho laberinto acuático se sitúa una plataforma que debe ser localizada por el animal para poder escapar del agua. Para su localización (queda sumergida generalmente un centímetro por debajo del agua), el animal debe orientarse utilizando una serie de pistas visuales que se colocan alrededor de la piscina (señales distales al laberinto). Existen dos fases que se evalúan en el paradigma de Morris, la primera es la fase de adquisición de memoria y aprendizaje espacial, la cual dura varios días, dependiendo del diseño, en esta fase el ratón debe encontrar en repetidos ensayos diarios la plataforma oculta. Después de esta fase se realiza un

solo ensayo final la llamada fase de recuperación de memoria y aprendizaje espacial, en la que se retira la plataforma, y se deja al animal nadar libremente por un tiempo y se tiene como indicador principal de dicha fase la cantidad de tiempo que el animal nada en el cuadrante donde se situaba la plataforma (Vicens, P., 2003; Vorhees, C., Williams, y M., 2006; Sharma, S., et al., 2010).

CAPÍTULO 3: METODOLOGÍA

3.1. Método

3.1.1. Tipo y Diseño de Investigación

El tipo de Investigación fue experimental, porque se manipuló una variable independiente (causa), para analizar las consecuencias la variable dependiente (efecto), dentro de una situación de control por parte del investigador, siendo el diseño un experimento de laboratorio.

3.1.2. Población

3.1.2.1. Unidad de Análisis. Un ratón albino macho de la cepa BALB/c de la Granja de Producción de Animales de Laboratorio del Instituto Nacional de Salud.

3.1.2.2. Población de Estudio. 60 ratones albinos machos de la cepa BALB/c de la Granja de Producción de Animales de Laboratorio del Instituto Nacional de Salud.

3.1.2.2.1. Criterios de selección de la población.

a. Criterios de Inclusión

- Ratones jóvenes de 2 meses de edad
- Ratones adulto de 5 meses de edad
- Ratones seniles de 9 meses de edad

- Ratones criados en buenas condiciones sanitarias: sistémicas, dentarias y libres de enfermedades infecto-contagiosas.

b. Criterios de Exclusión.

- Ratones con enfermedades degenerativas o del desarrollo.

3.1.2.2.2. Tamaño de la Población. El número de ratones por grupo se definió en base a investigaciones que trabajan variables similares (Yamamoto, Y., et al., 2009; Heredia, L., Torrente, M., Colomina, M., y Domingo, J., 2012; Kurata, Ch., Ichihashi, Y., Onishi, M., Inuma, M., Tamura, Y., Mori, D., 2012; Frota de Almeida, M., et al., 2012); así, los 60 ratones de la cepa BALB/c de la Granja de Producción de Animales de Laboratorio del Instituto Nacional de Salud que constituyeron la población de estudio, se dividieron en 3 grupos de 20 ratones cada uno según grupo etario.

3.1.2.2.3. Técnicas empleadas para asignación a los subgrupos de estudios. La asignación hacia los sub-grupos experimentales se realizó por aleatorización simple mediante la función =aleatorio() del programa Microsoft Excel; así los 20 ratones de cada grupo etario se dividieron en 2 subgrupos de 10 animales cada uno.

3.1.3. Técnicas de Recolección de Datos

3.1.3.1. Procedimientos.

a) Conformación de los subgrupos experimentales.

Los 60 ratones de la población fueron divididos inicialmente en 3 grupos etarios de 20 animales cada uno, un grupo de ratones de 2 meses de edad, un grupo de 5 meses de edad y un grupo de 9 meses de edad. Cada grupo etario se dividió aleatoriamente en 2 subgrupos experimentales de 10 ratones cada uno, rotulando primeramente a cada ratón de cada grupo del 1 al 20 y en un segundo momento se asignó los 10 ratones de cada grupo

de acuerdo a la lista aleatoria que el software generó, los 10 números más bajos que generó la lista se asignaron al grupo masticación normal y los siguientes 10 números al grupo masticación deficiente.

Todos los ratones recibieron desde el destete una dieta convencional para ratón (dieta en granos) en la Granja de Producción de Animales de Laboratorio del Instituto Nacional de Salud. Luego de la compra de los animales, éstos se alojaron en el Bioterio de la Facultad de Medicina de la Universidad Nacional Mayor de San Marcos en una habitación donde recibieron durante todo el tiempo que duró la investigación alimento y agua *ad libitum*, con ciclos luz/oscuridad de 12 horas alternadas, de acuerdo a las recomendaciones de la Guide for the Care and Use of Laboratory Animal. Durante la primera semana todos los roedores mantuvieron la misma dieta consumida desde el momento del destete (se adquirió el mismo alimento que los ratones recibieron desde el destete). Después de la semana de ambientación cada grupo etario de 20 ratones se dividió en los 2 sub-grupos experimentales de 10 ratones cada uno, según el método ya expuesto. Luego los subgrupos experimentales fueron sometidos *durante 2 meses a dos tipos de dieta*, los animales asignados al subgrupo en el cual se continuó con la alimentación en granos (convencional para ratón) que consumieron desde el destete fue nominado como el **subgrupo masticación normal**; por otra parte, al subgrupo experimental que se alimentó con el mismo alimento en granos pero **pulverizándolo** fue nominado como **subgrupo masticación deficiente** (Anexo 1 y Anexo 2).

Los subgrupos fueron etiquetados según la distribución:

Subgrupo de ratones jóvenes con masticación normal.- Conformado por 10 ratones jóvenes adquiridos a los 2 meses de edad a los cuales se les indujo una masticación normal en base al mantenimiento de dieta convencional para ratón y fueron **evaluados a los 4 meses de edad**.

Subgrupo de ratones jóvenes con masticación deficiente.- Conformado por 10 ratones jóvenes adquiridos a los 2 meses de edad a los cuales se les indujo una masticación deficiente en base a una dieta en polvo (alimento convencional pulverizado) y fueron **evaluados a los 4 meses de edad.**

Subgrupo de ratones adultos con masticación normal.- Conformado por 10 ratones jóvenes adquiridos a los 5 meses de edad a los cuales se les indujo una masticación normal en base al mantenimiento de dieta convencional para ratón y fueron **evaluados a los 7 meses de edad.**

Subgrupo de ratones adultos con masticación deficiente.- Conformado por 10 ratones jóvenes adquiridos a los 5 meses de edad a los cuales se les indujo una masticación deficiente en base a una dieta en polvo (alimento convencional pulverizado) y fueron **evaluados a los 7 meses de edad.**

Subgrupo de ratones seniles con masticación normal.- Conformado por 10 ratones jóvenes adquiridos a los 9 meses de edad a los cuales se les indujo una masticación normal en base al mantenimiento de dieta convencional para ratón y fueron **evaluados a los 11 meses de edad.**

Subgrupo de ratones seniles con masticación deficiente.- Conformado por 10 ratones jóvenes adquiridos a los 9 meses de edad a los cuales se les indujo una masticación deficiente en base a una dieta en polvo (alimento convencional pulverizado) y fueron **evaluados a los 11 meses de edad.**

b) Instrumentos

Laberinto Acuático de Morris. El laberinto acuático de Morris empleado fue de diseño y características similares al descrito por Dhingra, D., y Kumar, V., (2012) y Kitanaka, J., (2015) y que consistió en un tanque de plástico de forma circular de 60 cm de diámetro, 30 cm de profundidad y que para las pruebas de la fase de recuperación de memoria-aprendizaje espacial se dividió en cuatro cuadrantes mediante la utilización de un hilo

de pabalo que se cruzó en forma de cruz. El laberinto acuático, durante todos los días que duró el experimento, estuvo colocado dentro de una habitación (6m x 4m) que tuvo características distintivas en cada una de sus paredes. Dentro del laberinto se colocó una **plataforma de escape** que fue hecha de plástico de color negro con una altura de 23 cm y un área superficial de 6 cm x 6 cm (Anexo 3).

El laberinto fue llenado con agua que se tintó de color negro con un colorante marca *Fratello*, la temperatura del agua del tanque fue de 22 ± 2 °C lo cual se logró mediante el uso de un hervidor eléctrico, el laberinto se llenó hasta alcanzar los 24 cm; es decir, a 1 cm por encima de la altura de la plataforma. Durante todos los ensayos en las pruebas de adquisición de memoria-aprendizaje espacial, la plataforma de escape siempre se mantuvo en la parte central del mismo cuadrante (cuadrante objetivo) y el paradigma de Morris siempre se mantuvo en una misma posición dentro de la habitación (Anexo 4).

c) Variables estudiadas.

Variable independiente: tipo de masticación (Anexo 5).

Variable dependiente: Memoria-aprendizaje espacial (Anexo 5).

d) Medición de la memoria-aprendizaje espacial. *Luego de los 2 meses del mantenimiento de la dieta respectiva*, cada ratón de cada grupo experimental fue evaluado durante los 4 primeros días en la llamada fase de adquisición de memoria-aprendizaje espacial y al 5^{to} día en la llamada fase de recuperación de memoria-aprendizaje espacial.

i. Fase de Adquisición de memoria-aprendizaje espacial. Los animales fueron evaluados en la fase de adquisición de memoria-aprendizaje espacial entre las 08:00 horas y las 12:00 horas. La fase de adquisición se realizó durante 4 días, cada día cada ratón realizó 4 ensayos separados por 30 s de descanso, aleatoriamente se determinó cada día el orden de salida para cada ensayo dentro de los 4 cuadrantes en los que se dividió el

laberinto. Un ensayo consistió en la liberación del animal con su cabeza hacia la pared de la parte central de alguno de los 4 cuadrantes posibles, y se dejó libremente que nade; *para esta fase se midió el tiempo que duro un ensayo el cual concluyó cuando el animal se posó por lo menos 15 s sobre la plataforma oculta*. El tiempo máximo de nado libre fue de 60 s, si durante dicho tiempo el ratón no encontró la plataforma, el experimentador se encargó de guiarlo hacia ella y lo mantuvo allí por 15 s, en tal caso el puntaje asignado al ratón fue de 90 s de duración del ensayo. Para esta fase se entiende que cuanto menor tiempo demoró el roedor en llegar a la plataforma oculta, éste tuvo una mejor memoria y aprendizaje espacial (Anexo 6 y 7).

ii. Prueba de recuperación de memoria-aprendizaje espacial. El quinto día consistió en la fase de recuperación de memoria y aprendizaje espacial que, igual que la fase previa se realizó entre las 08:00 horas y las 12:00 horas, para lo cual se llevó a cabo un único ensayo pero con características diferente al descrito, para dicho ensayo se retiró la plataforma y se liberó, desde el cuadrante opuesto a donde estuvo oculta la plataforma, a cada ratón durante 60 s, evaluándose: *1) la cantidad de tiempo que el animal nadó en el cuadrante donde estuvo ubicada la plataforma (cuadrante objetivo) y 2) el tiempo que tardó el ratón en llegar desde su liberación hasta la zona específica donde antes estuvo ubicada la plataforma de oculta*. Para esta fase, se entiende que cuanto mayor tiempo, de los 60 segundos, nadó el animal en el cuadrante objetivo y cuanto menor tiempo demoró en llegar a la zona donde antes se ubicó la plataforma oculta, se relacionaron con una mejor memoria y aprendizaje espacial.

Los datos de todos los ensayos de ambas fases descritas se registraron mediante una filmadora Canon Fs100, y posteriormente cada filmación fue procesada en el programa Ethovision XT 11.5 de Noldus de donde se obtuvieron los resultados.

Finalizando cada etapa de la fase experimental, de la presente investigación, se procedió a la donación de los animales al bioterio de la Facultad de Medicina Humana.

3.1.4. Análisis e Interpretación de la información

Los análisis estadísticos se realizaron con el programa SPSS versión 23. Los resultados se expresan utilizando la media y desviación estándar. La normalidad fue determinada por la prueba de Kolmogorov – Smirnov, donde se encuentra una distribución normal para los datos de la fase de adquisición y de recuperación (Anexo 8, 9 y 10), en base a ello se emplearon pruebas paramétricas para evaluar los datos de ambas fases, como la prueba de Modelo General Lineal, Anova, prueba post hoc de Tukey y t student para muestras independiente. El nivel de significancia considerado fue de 0.05.

3.1.5. Aspectos Éticos

El investigador del presente estudio manifiesta conocer y respetar el documento “Principios Directrices Internacionales para la Investigación Biomédica que implique el Uso de Animales” (Anexo 11). Adicionalmente manifiesta haber revisado las recomendaciones dadas por el Instituto Nacional de Salud (INS) y The Guide for the Care and Use of Laboratory Animals sobre el adecuado manejo y mantenimiento de material biológico en investigaciones biomédicas, además de contar con la aprobación del Comité de Ética de Investigación de la Facultad de Medicina de la Universidad Nacional Mayor de San Marcos (Anexo 12).

3.2. Materiales

3.2.1. Equipos

- Laberinto acuático de Morris adaptado en un tanque circular.

- Plataforma de escape.
- Termómetro de mercurio para medir la temperatura del agua.
- 1 Hervidor eléctrico.
- Cámara filmadora marca Canon modelo Fs100.
- 02 Cronómetros

3.2.2. Materiales biológicos y no biológicos e instrumentos para la parte experimental

- 60 ratones albinos de la cepa BALB/c de sexo masculino adquiridos del INS.
- 100 pares de guantes estériles.
- 20 mascarillas descartables.
- 2 Jarras de plástico para transportar agua.
- 2 sobres de colorante oscuro en polvo marca *Fratello*.
- Alimento balanceado para ratón producido por la Universidad Nacional Agraria la Molina (presentación en granos, que para inducir masticación deficiente fue pulverizado)

3.2.3. Instrumentos para el procesamiento de los datos

- Programa Ethovision XT 11.5 de Noldus.
- 1 cuaderno para registros.
- Lapiceros de diferentes colores.
- 1 Laptop marca Dell modelo Vostro 1310.

CAPITULO 4: RESULTADOS Y DISCUSIÓN

4.1. Resultados

4.1.1. *Presentación descriptiva de la población de estudio*

	Lugar de adquisición	Grupos según edad	Subgrupos según edad y tipo de masticación
60 ratones albinos machos de la cepa Balb/c	Granja de Producción de animales para experimentación del INS	20 ratones jóvenes de 4 meses de edad	10 ratones jóvenes bajo masticación normal
			10 ratones jóvenes bajo masticación deficiente
		20 ratones adultos de 7 meses de edad	10 ratones adultos bajo masticación normal
			10 ratones adultos bajo masticación deficiente
		20 ratones seniles de 11 meses de edad	10 ratones seniles bajo masticación normal
			10 ratones seniles bajo masticación deficiente

Cuadro 1. Visión general de las características de la población estudiada y su distribución según edad y tipo de masticación.

4.1.2. Presentación descriptiva de las variables evaluadas

Ratones según grupo etario	Subgrupos de ratones según grupo etario	Dieta empleada en cada subgrupo de ratones	Indicador	Tipo de masticación inducida por la dieta en cada subgrupo
<ul style="list-style-type: none"> • 20 ratones jóvenes • 20 ratones adultos • 20 ratones seniles 	<ul style="list-style-type: none"> • 10 ratones jóvenes • 10 ratones adultos • 10 ratones seniles 	Alimento balanceado en granos para ratón	Cantidad adecuada de ciclos masticatorios	Masticación normal
	<ul style="list-style-type: none"> • 10 ratones jóvenes • 10 ratones adultos • 10 ratones seniles 	Alimento balanceado pulverizado para ratón	Menor cantidad de ciclos masticatorios	Masticación deficiente

Cuadro 2. Determinación de los tipos de masticación en cada subgrupo de cada grupo etario.

Grupo etario	Día de pruebas	Subgrupos según tipo de masticación	Ratones por subgrupo	Media en segundos	Desviación estándar
Joven	Día 1	Normal	10	35,26	8,95
		Deficiente	10	35,41	10,21
	Día 2	Normal	10	27,45	7,38
		Deficiente	10	31,29	6,68
	Día 3	Normal	10	26,99	5,25
		Deficiente	10	30,06	6,69
	Día 4	Normal	10	27,43	4,29
		Deficiente	10	30,09	6,97
Adulto	Día 1	Normal	10	38,13	14,41
		Deficiente	10	55,19	18,78
	Día 2	Normal	10	31,35	4,78
		Deficiente	10	45,19	23,13
	Día 3	Normal	10	32,72	7,21
		Deficiente	10	39,49	15,76
	Día 4	Normal	10	30,22	9,83
		Deficiente	10	36,03	14,79
Senil	Día 1	Normal	10	57,19	10,37
		Deficiente	10	56,29	9,31
	Día 2	Normal	10	43,69	9,59
		Deficiente	10	45,67	7,90
	Día 3	Normal	10	44,28	10,28
		Deficiente	10	44,64	12,12
	Día 4	Normal	10	43,47	8,73
		Deficiente	10	44,07	5,49

Cuadro 3. Tiempos que tardaron los ratones en encontrar la plataforma oculta en el laberinto de Morris en la fase de adquisición de memoria-aprendizaje espacial por cada día de ensayos y por cada grupo y subgrupo etario.

Grupo etario	Pruebas evaluadas	Subgrupos según tipo de masticación	Ratones por subgrupo	Media en segundos	Desviación estándar
Joven	Tiempo que cada ratón nadó en el cuadrante objetivo	Normal	10	20,13	3,38
		Deficiente	10	22,94	4,26
	Tiempo que cada ratón tardó en llegar a la zona donde estuvo la plataforma oculta	Normal	10	8,97	3,49
		Deficiente	10	9,06	3,85
Adulto	Tiempo que cada ratón nadó en el cuadrante objetivo	Normal	10	19,57	4,82
		Deficiente	10	19,06	4,84
	Tiempo que cada ratón tardó en llegar a la zona donde estuvo la plataforma oculta	Normal	10	8,01	1,35
		Deficiente	10	8,07	1,65
Senil	Tiempo que cada ratón nadó en el cuadrante objetivo	Normal	10	18,04	2,21
		Deficiente	10	18,38	0,66
	Tiempo que cada ratón tardó en llegar a la zona donde estuvo la plataforma oculta	Normal	10	10,69	4,53
		Deficiente	10	9,83	5,06

Cuadro 4. Tiempos de las 2 pruebas evaluadas en la fase recuperación de memoria-aprendizaje espacial por cada grupo y subgrupo etario.

4.1.3. Presentación inferencial de las variables evaluadas

4.1.3.1 Resultados para la fase de adquisición de memoria-aprendizaje espacial en el laberinto de Morris. Se aplicó entre los subgrupos de masticación normal vs masticación deficiente dentro de cada grupo etario la prueba paramétrica de modelo general lineal (Anexo 13), para evaluar si existen o no diferencias entre los tiempos que tardaron los ratones en encontrar la plataforma oculta; encontrándose un valor de $p=0,0761$ entre los subgrupo de ratones jóvenes, $p=0,312$ entre los

subgrupos de ratones adultos y $p=0,967$ entre los subgrupos de ratones seniles.

a) Resultados para el grupo de ratones jóvenes. Se obtuvieron los tiempos que tardaron los ratones de cada subgrupo en encontrar la plataforma oculta para cada uno de los cuatro días que duro esta fase de adquisición, se compararon los subgrupos de masticación normal vs masticación deficiente mediante la prueba t para muestras independientes, se obtuvo un valor de $p=0,973$ para el día 1, $p=0,238$ para el día 2, $p=0,267$ para el día 3 y $p=0,317$ para el día 4.

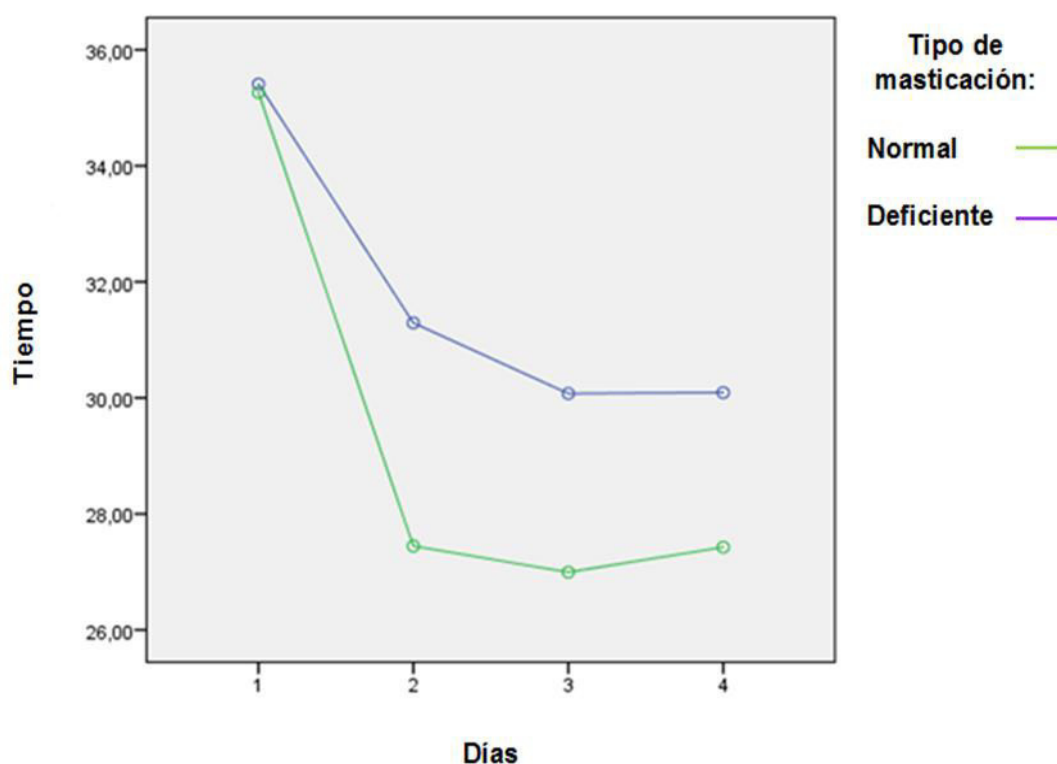
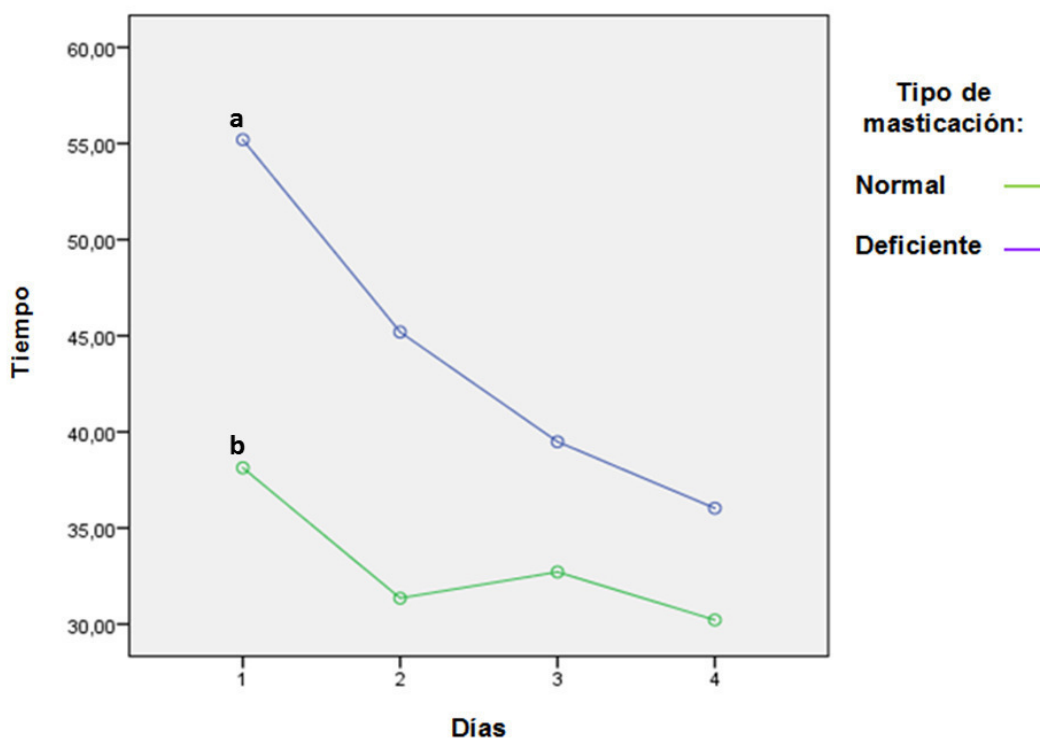


Figura 1. Comparación de los tiempos que tardaron los ratones jóvenes en encontrar la plataforma oculta por cada día en la fase de adquisición de memoria-aprendizaje espacial.

b) Resultados para el grupo de ratones adultos. Se obtuvieron los tiempos que tardaron los ratones de cada subgrupo en encontrar la

plataforma oculta para cada uno de los cuatro días que duró esta fase de adquisición, se compararon los subgrupos de masticación normal vs masticación deficiente mediante la prueba t para muestras independientes, se obtuvo un valor de **p=0,035** para el día 1, p=0,094 para el día 2, p=0,239 para el día 3 y p=0,314 para el día 4.



a,b superíndices diferentes significan resultados estadísticamente significativos.

Figura 2. Comparación de los tiempos que tardaron los ratones adultos en encontrar la plataforma oculta por cada día en la fase de adquisición de memoria-aprendizaje espacial.

c) Resultados para el grupo de ratones seniles. Se obtuvieron los tiempos que tardaron los ratones de cada subgrupo en encontrar la plataforma oculta para cada uno de los cuatro días que duro esta fase de adquisición, se compararon los subgrupos de masticación normal vs masticación deficiente mediante la prueba t para muestras independientes,

se obtuvo un valor de $p=0,842$ para el día 1, $p=0,622$ para el día 2, $p=0,942$ para el día 3 y $p=0,856$ para el día 4.

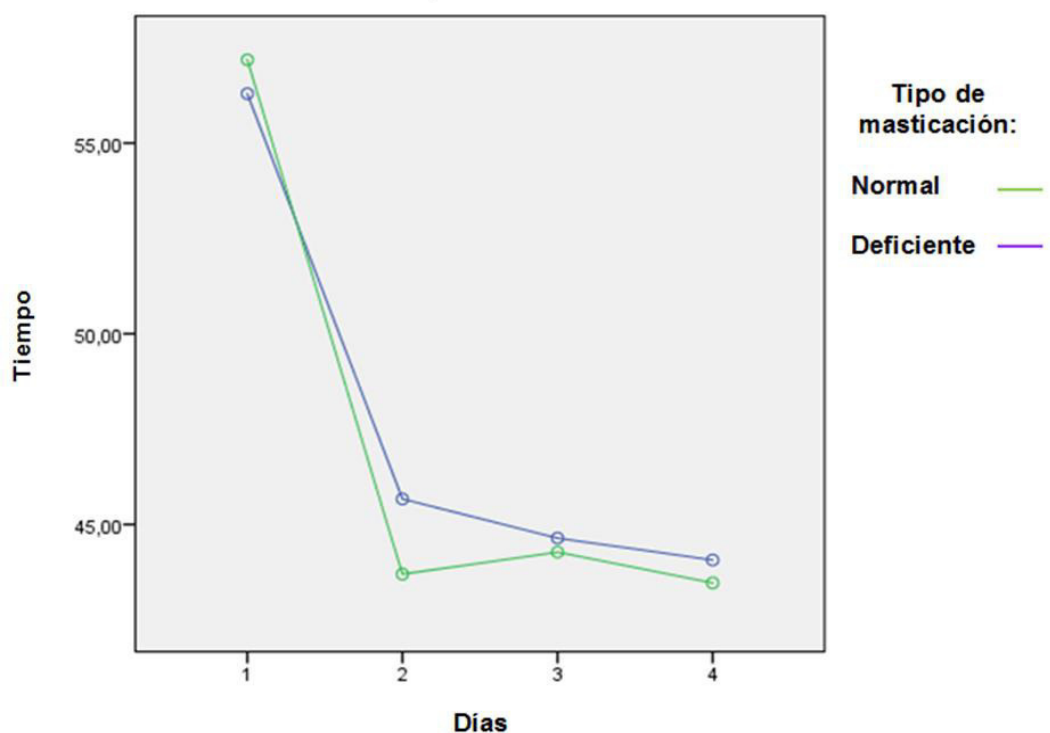
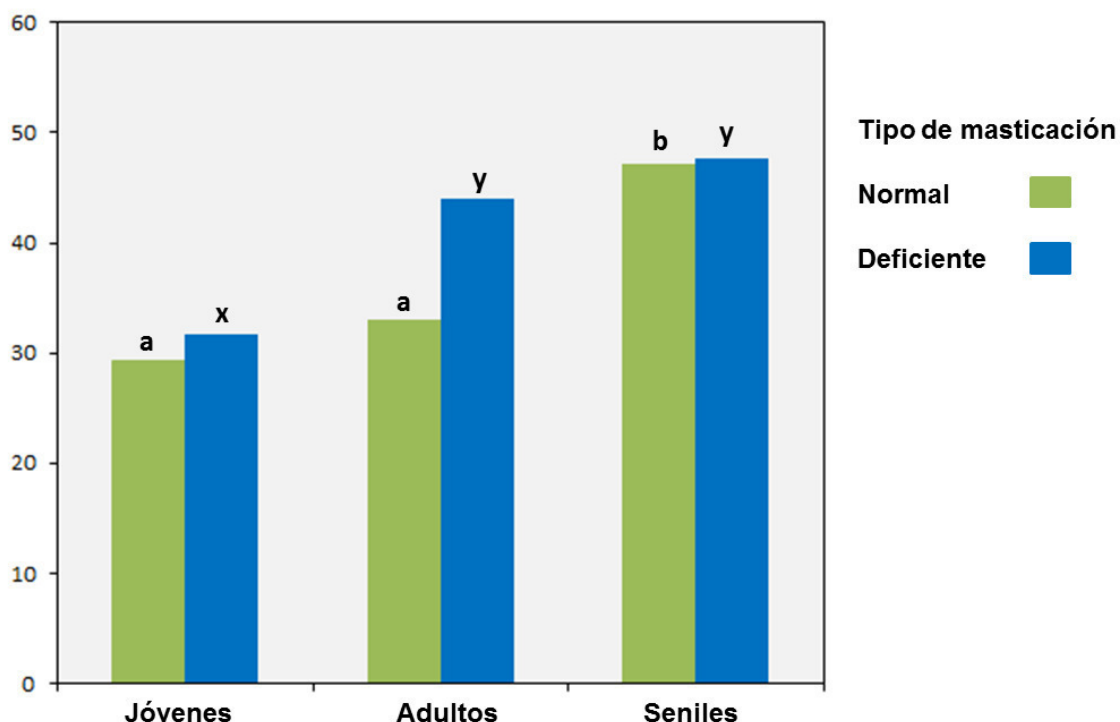


Figura 3. Comparación de los tiempos que tardaron los ratones seniles en encontrar la plataforma oculta por cada día en la fase de adquisición de memoria-aprendizaje espacial.

d) Resultados entre los 3 grupos etarios agrupados por tipo de masticación. Se empleó la prueba de Anova (Anexo 14) para compararon los tiempos que tardaron los ratones en encontrar la plataforma oculta en la fase de adquisición de memoria-aprendizaje espacial entre los tres subgrupos etarios bajo masticación normal y entre los tres subgrupos etarios bajo masticación deficiente encontrándose un valor de **$p=0,000$ y $p=0,002$** , respectivamente. Se aplicó las prueba post hoc de Tukey (Anexo 15) para los 3 subgrupos bajo masticación normal y para los 3 subgrupos bajo masticación deficiente (Anexo 16) cuyos resultados se muestran en la figura 4.



Superíndices diferentes en los subgrupos bajo masticación normal (^a, ^b) y bajo masticación deficiente (^x, ^y) significan resultados estadísticamente significativos.

Figura 4. Comparación de los resultados de las pruebas de la fase adquisición de memoria-aprendizaje espacial entre los 3 subgrupos etarios agrupados por tipo de masticación.

4.1.3.2 Resultados para la fase de recuperación de memoria-aprendizaje espacial en el laberinto de Morris. Se presentan los resultados para la fase de recuperación, primeramente se comparan los resultados entre los subgrupos masticación normal vs masticación deficiente dentro de cada grupo etario y posteriormente se comparan los resultados entre los 3 grupos etarios agrupados por tipo de masticación.

a) Resultados entre los subgrupos de masticación por cada grupo etario. Se empleó la prueba de T de student para muestras independientes para compararon los subgrupos de masticación normal vs masticación

deficiente dentro de cada grupo etario en base a los resultados de las 2 pruebas realizadas en esta fase: “tiempo de nado en el cuadrante objetivo” (Figura 5) y “tiempo que cada ratón tardó en llegar a la zona donde estuvo la plataforma oculta” (Figura 6). Para los ratones jóvenes los valores fueron $p=0,643$ y $p= 0,960$ para cada prueba respectivamente; para los ratones adultos los valores fueron $p= 0,680$ y $p= 0,933$ para cada prueba respectivamente y para los ratones seniles los valores fueron $p= 0,645$ y $p= 0,693$ para cada prueba respectivamente.

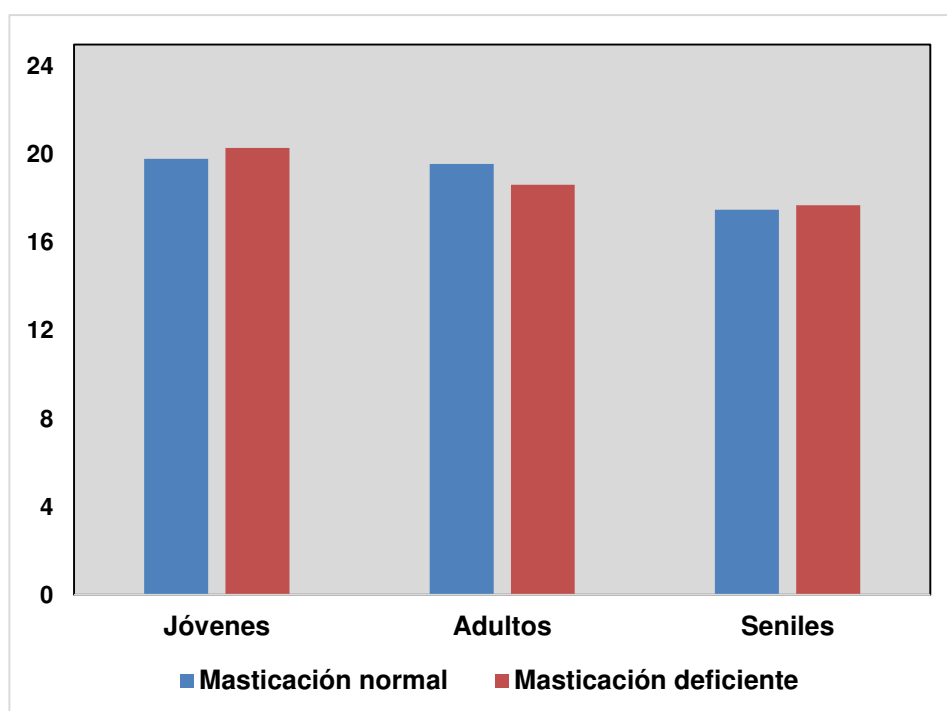


Figura 5. Comparación de los tiempos de nado en el cuadrante objetivo en la fase de recuperación de memoria-aprendizaje espacial.

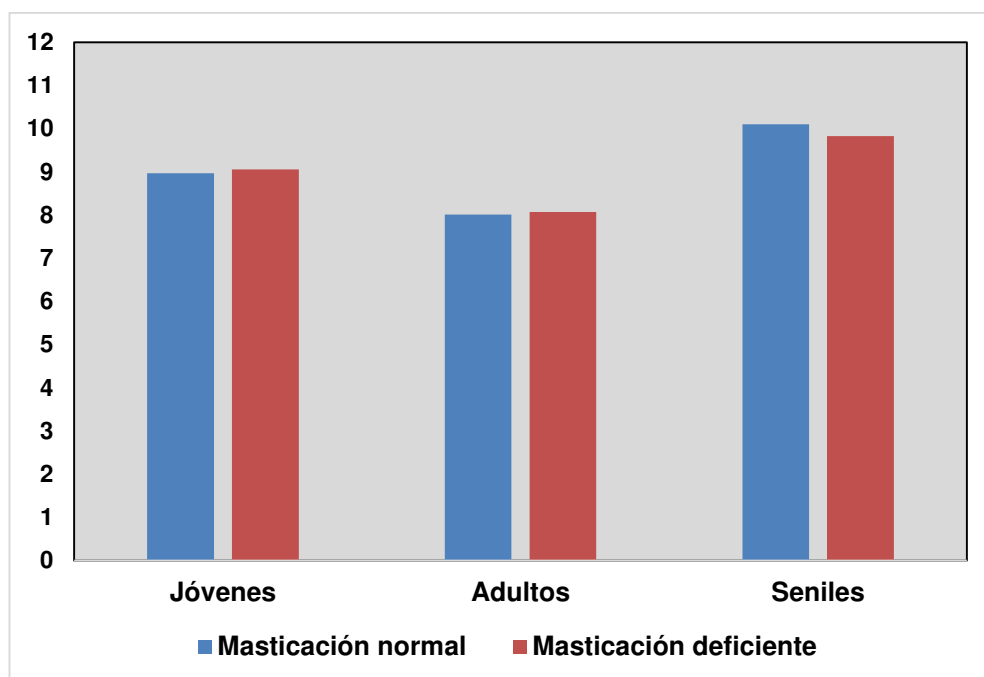


Figura 6. Comparación de los tiempos que los ratones tardaron en llegar a la zona donde estuvo la plataforma oculta en la fase de recuperación de memoria-aprendizaje espacial.

b) Resultados entre los 3 grupos etarios agrupados por tipo de masticación. Se empleó la prueba de Anova para comparar los resultados de las 2 pruebas de esta fase de recuperación de memoria-aprendizaje espacial. Para la prueba de “tiempo que nadó cada ratón en el cuadrante objetivo” entre los 3 subgrupos etarios bajo masticación normal se obtuvo un valor $p=0,421$; y para los 3 subgrupos bajo masticación deficiente el valor fue $p=0,298$ (Figura 7; Anexo 17). Para la prueba de “tiempo que cada ratón tardó en llegar a la zona donde estuvo la plataforma oculta” en los 3 subgrupos etarios bajo masticación normal el valor fue $p=0.220$ y para los subgrupos bajo masticación deficiente el valor fue $p=0,587$ (Figura 8; Anexo 18).

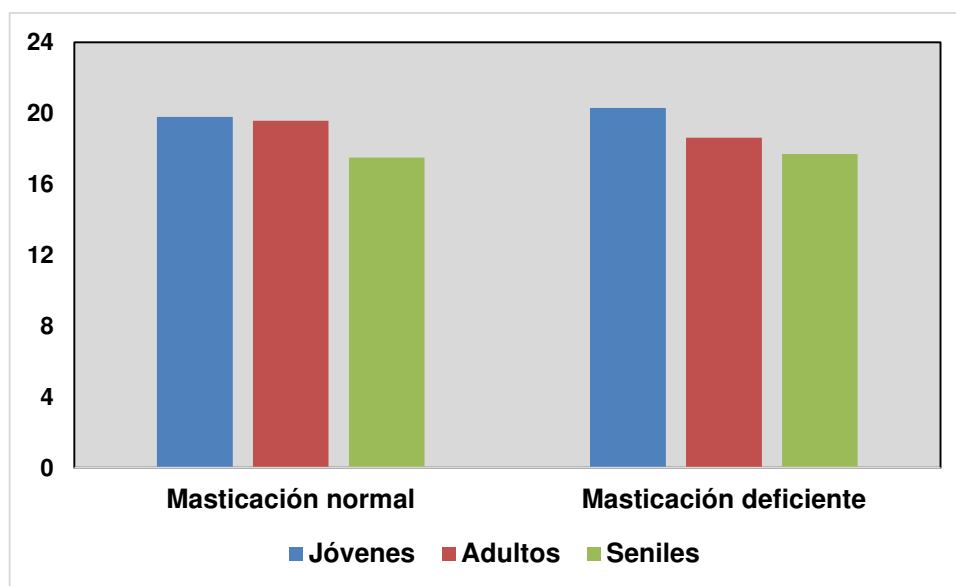


Figura 7. Comparación de los resultados del tiempo que nadaron los ratones en el cuadrante objetivo en la fase de recuperación de memoria-aprendizaje espacial entre los 3 subgrupos etarios agrupados por tipo de masticación.

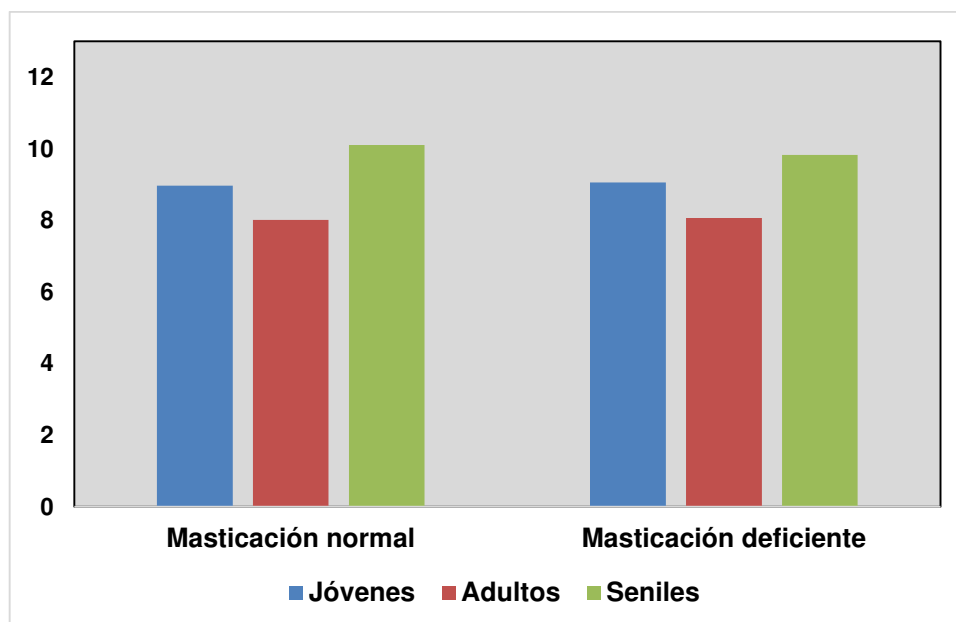


Figura 8. Comparación de los resultados del tiempo que los ratones tardaron en llegar a la zona donde estuvo la plataforma oculta en la fase de recuperación de memoria-aprendizaje espacial entre los 3 subgrupos etarios agrupados por tipo de masticación.

4.2. Análisis, Interpretación y Discusión de Resultados

En la presente investigación se tuvo como objetivo general determinar la influencia del tipo de masticación sobre la memoria-aprendizaje espacial, para lo cual se emplearon 60 ratones albinos de la cepa Balb/c adquiridos del INS en muy buenas condiciones sanitarias. Se encontró, al comparar los subgrupos de masticación normal vs masticación deficiente, que la masticación normal tuvo un efecto positivo sobre la memoria-aprendizaje espacial en el primer día de la fase de adquisición del grupo de ratones adultos. Además, al comparar los tres grupos etarios agrupados por tipo de masticación en la misma fase de adquisición, se encontró que la masticación normal evitó un deterioro de la memoria-aprendizaje espacial en los ratones adultos, al no hallarse diferencias estadísticas al comparar sus resultados con los ratones jóvenes; en cambio sí se encontró diferencias significativas en la fase de adquisición en los subgrupos de masticación deficiente al comparar los resultados entre los roedores jóvenes vs los adultos, lo cual nos indicaría un deterioro en la memoria-aprendizaje espacial en dicho grupo de ratones adultos que la masticación deficiente no pudo evitar.

En el caso de los ratones seniles los resultados entre los subgrupos de masticación fueron prácticamente iguales sin diferencias estadísticas, igualmente no se encontró significancia en ninguna comparación de la fase de recuperación de memoria-aprendizaje espacial. Por otra parte, si bien sólo se halló diferencias estadísticas en el primer día de la fase de adquisición en el grupo de los ratones adultos, hubo constante diferencia al comparar los resultados entre los tipos de masticación tanto en los ratones jóvenes (en el día 2, 3 y 4) como de los adultos (día 1, 2, 3 y 4) siempre a favor del subgrupo masticación normal, lo que marca una tendencia interesante que no puede pasar inadvertida a pesar, como se escribió anteriormente, de no llegar a tener significancia estadística. Lo cual nos indicaría, en términos generales y dentro de la muestra estudiada, que el mantenimiento de la masticación normal influyó positivamente mientras se estaba adquiriendo información referida a

memoria-aprendizaje espacial, pero no influyó en la recuperación de dicha información.

Yamamoto, T., et al., (2008) estudiaron el efecto de la masticación deficiente inducida por la dieta blanda sobre roedores, se investigó la influencia de dicho tipo de masticación sobre la expresión del factor neurotrófico derivado del cerebro (BDNF) en el hipocampo, que como ya fue descrito en el marco teórico es una de las proteínas inductoras de neurogénesis y potenciación a largo plazo e implicada en los procesos de memoria y aprendizaje. Se encontraron diferencias significativas en base a la disminución del BDNF en el grupo de ratones con masticación deficiente al evaluarlos al tercer y sexto mes de vida comparándolos con sus controles alimentados con dieta en grano (alimentación convencional para ratón), en términos generales dichos resultados moleculares coinciden con lo observado en el presente trabajo (donde se empleó el paradigma de Morris como prueba para evaluar la memoria-aprendizaje) respecto al grupo de ratones adultos, donde se encontró de manera significativa mayor memoria-aprendizaje espacial en el primer día de la fase de adquisición; sin embargo, no hubo coincidencia respecto al grupo de ratones jóvenes dado que en este estudio si hubo significancia estadística. El mismo grupo de investigadores Yamamoto, T., et al., (2009) estudiaron también el efecto de la alimentación con dieta blanda sobre la neurogénesis en el hipocampo de ratones albinos, inyectando intraperitonealmente bromodesoxiuridina, un marcador de proliferación celular. Observaron una reducción en la neurogénesis en el hipocampo de los ratones con masticación deficiente al evaluarlos al tercer (ratones jóvenes) y al sexto mes de vida (ratones adultos), comparándolos con sus controles alimentados con dieta en granos. En la presente investigación no se encontró diferencias significativas al evaluar a los ratones jóvenes pero en base a otro tipo de indicadores que se obtuvieron del paradigma de Morris, pero sí se observó que a pesar de no haber significancia estadística en los tiempo en encontrar la plataforma oculta, entre el grupo masticación normal vs masticación deficiente, los tiempos fueron menores desde el segundo día hasta el final de la fase de adquisición a favor del primero de los grupos enunciados, quizá el empleo de indicadores más sensibles (como es la

expresión de BDNF o la evaluación de neurogénesis en base a bromodesoxiuridina) que midan procesos más íntimos de la fisiología neuronal, también pudieran haber mostrado que las tendencias encontradas en el grupo de masticación normal de nuestro estudio pudieran haber resultado en diferencias estadísticas entre los grupos experimentales de ratones jóvenes; con respecto a los ratones adultos, como ya fue descrito, si existieron diferencias estadísticas en el primer día de la fase de adquisición coincidiendo con la mayor neurogénesis en base a bromodesoxiuridina encontrada en esta última investigación.

Frota de Almeida, M., et al., (2012) investigaron el efecto de la masticación sobre la memoria y el aprendizaje espacial en ratones empleando el mismo esquema de modificación en la dieta para inducir masticación deficiente, evaluando los resultados en base a pruebas realizadas en el laberinto acuático de Morris. Solo encontraron diferencias significativas a favor del grupo masticación normal (dieta en granos) en los ratones adultos de 6 meses de edad, comparando los tiempo en encontrar la plataforma oculta en la fase adquisición, con las del grupo de masticación deficiente (dieta pulverizada); sin embargo, dicha significancia no fue encontrada entre ambos tipos de masticación al evaluarlos en los ratones jóvenes de 3 ni en los ratones seniles de 18 meses de edad. En la presente investigación, en base a los resultados de los estadígrafos aplicados, no hay suficiente evidencia a nivel de significancia de 0.05 para afirmar que las diferencias observadas entre ambos grupos experimentales, tanto en la fase adquisición como de recuperación de memoria y aprendizaje espacial, se deban al tipo de masticación al evaluar al grupo de ratones jóvenes ni seniles, coincidiendo con la investigación referida. Sin embargo, sí se encontraron coincidencia en el grupo de ratones adultos, donde en nuestro estudio y el referido si hubo un efecto positivo de forma significativa de la masticación normal sobre la memoria-aprendizaje espacial. El empleo de instrumento e indicadores similares para evaluar la memoria-aprendizaje espacial, entre este último estudio referido y el nuestro, pueden explicar las similitudes encontradas en los resultados.

Si la masticación deficiente es un factor que puede alterar, en alguna medida, la función de memoria y de aprendizaje ello no fue observado en los ratones jóvenes, que, como también ocurre en el caso de los seres humanos, están en una etapa de crecimiento y desarrollo hacia la plenitud de sus capacidades fisiológicas (Moore, K., 2013; Pocock, G., 2013), y que debido a la fisiología propia de su edad tienen varias vías sensoriales de estimulación que se mantienen en plenitud de su capacidad, (Chen, H., et al., 2015) y que podrían compensar la influencia que podría tener la masticación deficiente para no observar, como ocurrió, una diferencia significativa al compararlos con el grupo de masticación normal.

Dentro de las comparaciones de los 3 grupos etarios agrupados por tipo de masticación, es adecuado resaltar que el mantenimiento de la masticación normal parece que actuaría como un mecanismo fisiológico periférico que lograría estimular adecuadamente al SNC y como consecuencia a la memoria-aprendizaje espacial, evitando una alteración significativa de dichas funciones cognitivas al no haberse encontrado diferencias estadísticas entre los grupos de ratones jóvenes vs ratones adultos en la fase de adquisición; diferencias significativas que sí fueron halladas en el tipo de masticación deficiente entre ambos grupos etarios. Por otra parte, con respecto a los hallazgos encontrados en los grupos seniles, parecería que la variación en el tipo de masticación no ejerce ningún efecto significativo sobre el envejecimiento, siendo los efectos que la senectud produce sobre el SNC mayores a cualquier estímulo positivo que la masticación eficiente podría ejercer, coincidiendo con lo reportado por Frota de Almeida, M., et al., (2012) que encontró a nivel histológico una marcada alteración en la forma y en el número de astrocitos en CA1 en los grupos de ratones seniles tanto de masticación normal y de masticación deficiente sin diferencias estadísticas entre ambos. Sin embargo, en varios estudios hechos en seres humanos se concluye que las deficiencias masticatorias en la senectud estarían relacionadas a alteraciones cognitivas e incluso a demencias (Sparks, P., Desrosiers, M., Donegan, S., Yepes, J., Kryscio, R., 2007; Steele, J., 2008; Hosoi, T., Morokuma, M., Shibuya, N., Yoneyama., 2011; Weijenberg, R., Scherder, E., y Lobbezoo, F., 2011), por lo

cual los resultados en los estudios en animales de experimentación deberían ser tomados con mucha cautela sobre todo en dicho grupo etario.

En las investigaciones en roedores que han sido señaladas en párrafos anteriores, se maneja el esquema de dar los cambios de dieta apenas ocurre el destete y evaluar a los animales en el tiempo, el aporte de la presente investigación es que el cambio de alimentación (grupo masticación deficiente) se ha dado en el segundo mes de vida del animal, varias semanas después del destete, tratando de simular lo que ocurre en el ser humano, en el cual (como ha observado en su práctica clínica diaria el autor del presente trabajo) las alteraciones que originan deterioro de la masticación se van dando en el desarrollo de la vida y, generalmente, no desde el inicio de la erupción dentaria. Finalmente, sería adecuado continuar explorando la asociación entre las variables propuestas, y si se llegará a confirmar estadísticamente ciertas tendencias observadas en esta investigación, posteriormente aplicar dichos conocimientos en el mejoramiento de la calidad de vida de los seres humanos; siendo el deterioro de la memoria y el aprendizaje una característica del envejecimiento, pero también un importante indicador en alteraciones como el deterioro cognitivo leve o la enfermedad de Alzheimer, y siendo la masticación una función que, en la mayoría de casos, es fácil de rehabilitar si es que se encuentra alterada, y que dicha rehabilitación podría mejorar la calidad de vida de los seres humanos de manera integral y no solamente en relación a su salud bucal.

4.3. Prueba de hipótesis

4.3.1. *Hipótesis General de Investigación*

- El tipo de masticación influye sobre la memoria-aprendizaje espacial en ratones albinos jóvenes, adultos y seniles.

4.3.2. *Hipótesis Específicas de Investigación*

- La masticación **normal** influye positivamente sobre la memoria-aprendizaje espacial en ratones albinos jóvenes, adultos y seniles.
- La masticación **deficiente** influye negativamente sobre la memoria-aprendizaje espacial en ratones albinos jóvenes, adultos y seniles.

4.3.3. *Análisis de los Datos Obtenidos*

- Fase de adquisición de memoria-aprendizaje espacial: se compararon los resultados obtenidos en cada uno de los 4 días que duró esta fase entre los tipos de masticación (normal vs deficiente) en cada grupo etario (jóvenes, adultos y seniles).
- Fase de recuperación de la memoria-aprendizaje espacial: se compararon los resultados obtenidos en las 2 pruebas que se evaluaron en esta fase entre los tipos de masticación (normal vs deficiente) en cada grupo etario (jóvenes, adultos y seniles).

En ambos casos, se procedió de acuerdo al diseño expuesto en la sección correspondiente.

4.3.4. Contrastación de las Hipótesis:

4.3.4.1. Planteamiento de las Hipótesis Estadísticas:

a. Hipótesis Específicas:

H1_n: La masticación **normal** influye positivamente sobre la memoria-aprendizaje espacial en ratones albinos jóvenes, adultos y seniles.

H0_n: La masticación **normal NO** influye positivamente sobre la memoria-aprendizaje espacial en ratones albinos jóvenes, adultos y seniles.

H1_d: La masticación **deficiente** influye negativamente sobre la memoria-aprendizaje espacial en ratones albinos jóvenes, adultos y seniles.

H1_d: La masticación **deficiente NO** influye negativamente sobre la memoria-aprendizaje espacial en ratones albinos jóvenes, adultos y seniles.

b. Hipótesis General:

H1: El tipo de masticación influye sobre la memoria-aprendizaje espacial en ratones albinos jóvenes, adultos y seniles.

H0: El tipo de masticación **NO** influye sobre la memoria-aprendizaje espacial en ratones albinos jóvenes, adultos y seniles.

4.3.4.2. Procedimiento estadístico:

1) Se Seleccionó el nivel de significancia o confianza de 0,05.

2) Selección del estadístico

Se trabajó con **2 enfoques**:

Enfoque 1.- Al cumplir los supuestos y ser **2 grupos independientes** (grupo masticación y grupo masticación deficiente) a comparar, se seleccionó la prueba t de student para muestras independientes.

Enfoque 2.- Al cumplir los supuestos y ser **3 grupos independientes** (jóvenes, adultos y seniles) a comparar, se seleccionó la prueba de ANOVA de un factor y la prueba post hoc de Tukey.

3) Regla de decisión: Se rechazará H_0 si $p < 0,05$.

Enfoque 1.- Comparación de 2 grupos independientes

En todas las comparaciones realizadas $p > 0,05$ salvo en el primer día de la fase de adquisición en el grupo de ratones adultos donde **$p = 0,035$** .

Se rechaza las H_{0n} y H_{0d} en el 1er día de la Fase de Adquisición de la M-A E del grupo de ratones adultos afirmándose que el tipo de masticación normal influye positivamente y que el tipo de masticación deficiente influye negativamente sobre la memoria-aprendizaje espacial en el primer día de la fase de adquisición. Rechazando también la H_0 en el 1er día de la Fase de Adquisición de la M-A E del grupo de ratones adultos afirmándose que el tipo de masticación influye sobre la memoria-aprendizaje espacial en el primer día de la fase de adquisición.

Se acepta la **H0_n**, **H0_a** y **H0** en las demás comparaciones hechas en el resto de días en los ratones adultos, así como en los grupos de ratones jóvenes y seniles, por lo que el tipo de masticación NO estaría influyendo (positiva o negativamente) sobre la memoria-aprendizaje espacial.

Enfoque 1.- Comparación de 3 grupos independientes

Al aplicar ANOVA en los grupos etarios agrupados bajo masticación normal el valor de **p = 0,000**, y en los grupos etarios agrupados bajo masticación deficiente el valor de **p = 0,002**.

Se rechaza **H0_n** y **H0_a** y la **H0** afirmándose que el tipo de masticación (normal o deficiente) influye sobre la memoria-aprendizaje espacial en ratones albinos jóvenes, adultos y seniles.

Al aplicar la prueba post hoc de Tukey en los 3 grupos bajo masticación normal se encuentra que el grupo de ratones seniles es el que difiere de los otros 2 (jóvenes y adultos, $p = 0,249$). Al aplicar la misma prueba en los 3 grupos bajo masticación deficiente se encuentra que el grupo de ratones jóvenes es el que difiere de los otros 2 (adultos y seniles, $p = 0,649$).

CONCLUSIONES

- 1) La masticación normal tiene un efecto positivo sobre la adquisición de información de memoria-aprendizaje espacial en el grupo de ratones adultos.
- 2) La masticación normal evitó un deterioro significativo de la memoria-aprendizaje espacial relacionado con la edad, al no encontrarse diferencias estadísticas en la fase de adquisición al comparar los ratones jóvenes vs adultos; resaltando que tales diferencias si fueron encontradas entre dichos subgrupos etarios pero bajo masticación deficiente.
- 3) En los ratones seniles el tipo de masticación no tiene influencia sobre la adquisición de memoria-aprendizaje espacial.
- 4) El tipo de masticación no tiene influencia sobre la recuperación de la memoria-aprendizaje espacial.

RECOMENDACIONES

- 1) Evaluar las mismas variables pero empleando indicadores más sensibles como pruebas inmunohistoquímicas y expresión de genes.
- 2) Estudiar las mismas variables en seres humanos.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Aguado-Aguilar, L. (2001). Aprendizaje y Memoria. *Revista de Neurología*, 32(4), 373-381.
- Aguirre, E., y Granados, S. (2015). The Deterioration of Spatial Memory and the Role of the Masticatory Function during Aging: A Brief Literature Review. *British Journal of Medicine and Medical Research*, 6(12):1177-1185. Doi:10.9734/BJMMR/2015/15779
- Aguirre-Siancas, EE. (2014). La memoria y el aprendizaje y su relación con la masticación. *Revista Mexicana de Neurociencia*, 15(6): 351-354.
- Aliaga, A., Mattos, M., Aliaga, R., Del Castillo, C. (2011). Maloclusiones en niños y adolescentes de caseríos y comunidades nativas de la Amazonía de Ucayali, Perú. *Revista peruana de medicina experimental y salud pública*, 28(1), 87-91.
- Allen, T., y Fortin, N. The evolution of episodic memory. (2013). *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 110(Supl 2), 10379–10386. doi: 10.1073/pnas.1301199110.
- Barber, Ch., Green, L., Cox, G. (1963). Effects of the Physical Consistency of Diet on the Condylar Growth of the Rat Mandible. *J. Dent. Res.*, 42(3), 848-851.
- Beecher, R., Corruccini, R. (1981). Effects of dietary consistency on craniofacial and occlusal development in the rat. *Angle Orthod*, 51(1):61-9.
- Bekinschtein, P., Cammarota, M., Medina, J. (2014). BDNF and memory processing. *Neuropharmacology*, 76, 677-683.
- Benavides, J., y Guénet, J. (2003). Manual de genética de roedores de laboratorio: Principios básicos y aplicaciones. Publicado por la universidad Alcalá de Henares. España.
- Birmingham, J., Gillespie, V., Srivastava, K., Li, X., y Busse, P. (2014). Influenza A infection enhances antigen-induced airway inflammation and hyperresponsiveness in young but not aged mice. *Clin Exp Allergy* 44 (9), 1188-99. doi: 10.1111/cea.12365.
- Campodónico, A., Chein, S., Benavente, L., Vidal, R., Delgadillo, J., y Álvarez, M. (2013). El perfil de salud-enfermedad bucal y las necesidades de

tratamiento de los adultos mayores de Lima urbana 2012. *Odontología Sanmarquina*, 16(2), 29-33.

- Caroni, P., Chowdhury, A., y Lahr, M. (2014). Synapse rearrangements upon learning: from divergent-sparse connectivity to dedicated sub-circuits. *Trends in Neurosciences*, 37; 604-614.
- Chen, J., Astle, C., y Harrison, D. (1999). Development and aging of primitive hematopoietic stem cells in BALB/cBy mice. *Experimental Hematology*, 27, 928–935.
- Chen, H., Iinuma, M., Onozuka, M., y Kubo, K. (2015). Chewing Maintains Hippocampus-Dependent Cognitive Function. *International Journal of Medical Sciences*, 12(6): 502-509. doi: 10.7150/ijms.11911
- Choi, K., y Sauder, D. (1987) Epidermal Langerhans cell density and contact sensitivity in Young and aged BALB/c mice. *Mech Ageing Dev*, 39 (1), 69-79.
- Crompton, A., y Parker, P. (1978). Evolution of the mammalian masticatory apparatus. *American Scientist*, 66:192-201.
- Demirci, D., Mutlu, O., Akar, F., Celikyurt, I., y Ulak, G. (2014). Sildenafil enhances locomotor activity in young mice and exerts anxiogenic effects in both young and aged mice. *Medical Science Monitor Basic Research*, 20, 15-21.
- Dhingra, D., y Kumar, V. (2012). Memory-Enhancing Activity of Palmatine in Mice Using Elevated Plus Maze and Morris Water Maze. *Advances in Pharmacological Sciences*. 2012; 2012:357368. doi: 10.1155/2012/357368.
- Enlow, D., y Hans, M. (2012). *Noções Básicas sobre Crescimento Facial*. (2^{da} ed.). Sao Paulo, Brasil. Editorial Santos.
- Frota de Almeida, M., Chaves de Siqueira, F., Gurgel, A., Falsoni, M., Ferreira de Andrade, M., Bento-Torres, J., et al. (2012). Spatial memory decline after masticatory deprivation and aging is associated with altered laminar distribution of CA1 astrocytes s: behavioral and stereological analysis. *BMC Neuroscience*, 14:23. doi: 10.1186/1471-2202-13-23.
- Fuentes, F., Mendoza, R., Rosales, A., y Cisneros, R. (2008). Guía de manejo y cuidado de animales de laboratorio: ratón. Ministerio de Salud, Instituto Nacional de Salud. Lima, Perú.

- Gabaudan, F., y Ureña, J. (2004). *Diccionario médico-biológico, histórico y etimológico*. Recuperado el 5 de Junio del 2014 de <http://www.dicciomed.eusal.es>.
- Gad, SC. (2007). *Animal Models in Toxicology*. 2^{do} ed. New York: Taylor & Francis Group.
- Guide for the Care and Use of Laboratory Animals. Eight ed. Washington D.C.: National Academy Press; 2010.
- Heredia, L., Torrente, M., Colomina, M., y Domingo, J. (2012). Behavioral effects of oral subacute exposure to BDE-209 in young adult mice: A preliminary study. *Food and Chemical Toxicology*, 50, 707–712.
- Hosoi, T., Morokuma, M., Shibuya, N., Yoneyama, Y. (2011). Influence of denture treatment on brain function activity. *Japanese Dental Science Review*, 47(1), 56-66.
- Kauser, H., Roy, S., Pal, A., Sreenivas, V., Mathur, R., Wadhwa, S., et al. (2011). Prenatal complex rhythmic music sound stimulation facilitates postnatal spatial learning but transiently impairs memory in the domestic chick. *Developmental Neuroscience*, 33(1), 48-56. doi: 10.1159/000322449.
- Kitanaka, J., Kitanaka, N., Hall, F., Fujii, M., Goto, A., Kanda, Y., et al. Memory Impairment and Reduced Exploratory Behavior in Mice after Administration of Systemic Morphine. *J Exp Neurosci*. 2015 May 11;9:27-35. doi: 10.4137/JEN.S25057.
- Kohman, R., Crowell, B., y Kusnecov, A. (2010). Differential sensitivity to endotoxin exposure in young and middle-age mice. *Brain, Behavior, and Immunity*, 24, 486–492.
- Krebs, C., Weinberg, J., y Akesson, E. (2012). *Neuroscience*. Baltimore, EE.UU: Lippincott Williams & Wilkins.
- Kou, Z., Zhang, Y., Zhang, T., Li, H., y Li, Y. (2011). Age-related increase in PKC gamma expression in the cochlear nucleus of hearing impaired C57BL/6J and BALB/c mice. *Journal of Chemical Neuroanatomy*, 41, 20–24.
- Kubo, K., Ichihashi, Y., Urata, Ch., Iinuma, M., Mori, D., Katayama, T., et al. (2010). Masticatory function and cognitive function. *Okajimas Folia Anatomica Japonica*, 87(3), 135–140.

- Kurata, Ch., Ichihashi, Y., Onishi, M., Iinuma, M., Tamura, Y., Mori, D., et al. (2012). Early toothless condition suppresses cell proliferation in the hippocampal dentate gyrus of SAMP8 mice. *Pediatric dental journal*, 22(2), 110–116.
- Kushida, S., Kimoto, K., Hori, N., Toyoda, M., Karasawa, N., y Yamamoto. (2008). Soft-diet feeding decreases dopamine release and impairs aversion learning in Alzheimer model rats. *Neuroscience Letters*, 439, 208–211.
- Lozano, L., y Lozano, A. (2007). La influencia de la música en el aprendizaje. *Memorias del IX Congreso Nacional de Investigación Educativa*. Mérida, México.
- Lu, Y., Christian, C., y Lu, B. (2008). BDNF: A key regulator for protein synthesis-dependent LTP and long-term memory? *Neurobiology of Learning and Memory*, 89, 312–323.
- Lumsden, A., y Osborn, J. (1977). The evolutions of chewing: a dentist's view of palaeontology. *Journal of Dental Research*, 5, 269-272.
- Maguire, E., Gadian, D., Johnsrude, I., Good, C., Ashburner, J., y Frackowiak, R., (2000). Navigation-related structural change in the hippocampi of taxi drivers. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 97, 4398–4403.
- Maguire, E., Woollett, K., y Spiers, H., (2006). London taxi drivers and bus drivers: a structural MRI and neuropsychological analysis. *Hippocampus*, 16(12), 1091–1101.
- Manns, A., Biotti, J., Brizuela, C., Dolwick, M., Fresno, M., y Gonzales, H. (2013). *Sistema Estomatognático: Fisiología y sus correlaciones clínicas-biológicas*. Madrid, España: Editorial Médica Ripano.
- Mendes, F., Frota de Almeida, M., Fadel, A., Silva, D., Borralho, T., Da Silva, R., et al (2013). Enriched environment and masticatory activity rehabilitation recover spatial memory decline in aged. *BMC Neuroscience*, 14:63.
- Moore, K., Persaud, T., y Torchia, M. (2013). *Embriología Clínica*. (9^{ta} ed.). Barcelona, España: Elsevier.
- Moore, W. (1965). Masticatory function and skull growth. *J. Zool.*, 146: 123-131.

- Nader, I., Gittler, G., Waldherr, K., y Pietschnig, J. (2010). Chew on this: No support for facilitating effects of gum on spatial task performance. *Archives of oral biology*, 55, 712 – 717.
- Nelson, K., Marks, N., Heyen, J., y Johnson, R. (1999). Behavior of Adult and Aged Mice Before and After Central Injection of Interleukin-1b. *Physiology & Behavior*, 66 (4), 673–679.
- Okeson, J. (2008). *Tratamiento de la oclusión y afecciones temporomandibulares*. (6^{ta} ed.). Barcelona, España: Elsevier.
- Ono, Y., Yamamoto, T., Yatubo, K., y Onozuka, M. (2010). Occlusion and brain function: mastication as a prevention of cognitive dysfunction. *Journal of Oral Rehabilitation*, 37, 624–640.
- Onyper, S., Carr, T., Farrar, J., y Floyd, B. (2011). Cognitive advantages of chewing gum. Now you see them, now you don't. *Appetite*, 57, 321–328.
- Ortiz P. (1998). *El nivel consciente de la memoria: Una hipótesis de trabajo*. Lima, Perú. Fondo Editorial de la Universidad de Lima.
- Ortiz C. (2010). *Introducción a una Psicobiología del Hombre*. (2^o Edición). Lima, Perú. Fondo Editorial de la Universidad Nacional Mayor de San Marcos.
- Oue, H., Miyamoto, Y., Okada, S., Koretake, K., Jung, C., y Michikawa, M. (2013). Tooth loss induces memory impairment and neuronal cell loss in APP transgenic mice. *Behavioural Brain Research*, 252, 318– 325.
- Overman, A., Sun, J., Golding, A., y Prevost, D. (2009). Chewing gum does not induce context-dependent memory when flavor is held constant. *Appetite*, 53, 253–5.
- Oyuela, R., Lareo, L., Muñoz, L., Morales, L., Echeverry, S., y Uribe, A. (2004). Efecto en el aprendizaje y la memoria espacial de un péptido sintético en ratas: estudio preliminar. *Psicología desde el Caribe*, 13, 1-14.
- Panja, D., y Bramham, C. (2014). BDNF mechanisms in late LTP formation: A synthesis and breakdown. *Neuropharmacology*, 76, 664-676.
- Patten, A., Moller, D., Graham, J., Gil-Mohapel, J., y Christie, B. (2013). Liquid diets reduce cell proliferation but not neurogenesis in the adult rat hippocampus. *Neuroscience*, 254, 173–184
- Planas., P. (2008). *Rehabilitación Neuro – Oclusal*. (2^{da} ed.). Madrid: Amolca.

- Pocock, G., Richards, C., Richards, D. (2013). *Human Physiology*. (4^{ta} ed.). Oxford, Inglaterra: Oxford University Press.
- Puig, M., y Miller, E. (2012). The Role of Prefrontal Dopamine D1 Receptor in the Neural Mechanisms of Associative Learning. *Neuroscience*. 74 (5); 874-886.
- Puig, M., Antzoulatos, E., y Miller, E. (2014). Prefrontal dopamine in associative learning and memory. *Neuroscience*. 282; 217-29.
- Quintero, A. (2012). Brain activity of human mastication. A dissertation submitted in partial fulfillment of the requirements for the degree of Doctor of Philosophy (Oral Health Sciences) in The University of Michigan.
- Real Academia Española. (2001). *Diccionario de la Real Academia Española*. (22^{da} ed.). Madrid: Espasa-Calpe.
- Sharma, S., Rakoczy, S., y Brown-Borg, H. (2010). Assessment of spatial memory in mice. *Life Sciences*, 87, 521–536.
- Simoes, W. (2004). *Ortopedia Funcional de los Maxilares*. (3^{era} ed.). Buenos Aires, Argentina: Artes Médicas Latinoamericanas.
- Sparks, P., Desrosiers, M., Donegan, S., Yepes, J., Kryscio, R. (2007). Tooth loss dementia and neuropathology in the Nun Study. *J Am Dent Assoc*, 138(10), 1314-22.
- Steele, J. (2008). Tooth Loos May Be More Frequent in Older People With a Genetic Predisposition Towards Dementia. *Journal of Evidence Based Dental Practice*, 8(4), 253-254.
- Teixeira, F., Pereira, L., Tavares, P., Raiol, M., Gomes-Leal, W., Ferraz, C., et al. Masticatory Deficiency as a Risk Factor for Cognitive Dysfunction. (2014). *International Journal of Medical Sciences*, 11(2), 209-214. doi: 10.7150/ijms.6801.
- Türker, K. (2002). Reflex control of human jaw muscles. *Critical Reviews in Oral Biology & Medicine*, 13, 85-104.
- Universidad de Navarra. (2013). *Diccionario Médico*. Recuperado el 6 de Junio del 2014 de <http://www.cun.es/diccionario-medico>.
- Van Strien, N., Cappaert, N., y Witter, M. (2009). The anatomy of memory: An interactive overview of the parahippocampal-hippocampal network. *Nature Reviews Neuroscience*, 10(4), 272-282. doi: 10.1038/nrn2614.

- Vicens, P., Redolat, R., y Carrasco, M. (2003). Aprendizaje espacial y laberinto de agua: metodología y aplicaciones. *Psicothema*, 15(4), 539-544.
- Vorhees, C., Williams, y M. (2006). Morris water maze: procedures for assessing spatial and related forms of learning and memory. *Nature Protocols* 1(2), 848–858.
- Weijenberg, R., Scherder, E., y Lobbezoo, F. (2011). Mastication for the mind—the relationship between mastication and cognition in ageing and dementia. *Neurosci Biobehav Rev*, 35(3), 483–497.
- Yamamoto, T., Hirayama, A., Hosoe, N., Furube, M., Shusuke, H (2008). Effects of Soft-diet Feeding on BDNF Expression in Hippocampus of Mice. *The Bulletin of Tokyo Dental College*, 49(4), 185–190.
- Yamamoto, T., Hirayama, A., Hosoe, N., Furube, M., Hirano, S (2009). Soft-diet Feeding Inhibits Adult Neurogenesis in Hippocampus of Mice. *The Bulletin of Tokyo Dental College*, 50(3), 117–124.
- Yoshino, F., Yoshida, A., Hori, N., Ono, Y., Kimoto, K., Onozuka, M., et al. (2012). Soft-food diet induces oxidative stress in the rat brain. *Neuroscience Letters*, 508, 42–46.

Anexo 1. Foto de las dietas empleadas para inducir los tipos de masticación



Anexo 2. Foto de los grupos experimentales donde se observan las dietas que indujeron los tipos de masticación



Anexo 3. Vista en primer plano de la plataforma de escape empleada dentro de la adaptación de la piscina de Morris



Anexo 4. Vista del laberinto de Morris habiendo ya agregado el agua tintada de negro en cuyo interior está la plataforma de escape



Anexo 5. Operacionalización de variables

i. Operacionalización de las variables independientes

Tipo de Masticación.

VARIABLE	DEFINICIÓN CONCEPTUAL	DEFINICIÓN OPERACIONAL	INDICADORES	UNIDAD DE MEDIDA	ESCALA	VALOR FINAL
Tipo de masticación	Proceso fisiológico conformado por ciclos masticatorios cuyo objetivo es la reducción del alimento a un tamaño y consistencia adecuada que posibiliten, a través de las degluciones sucesivas, consumirlo	Proceso fisiológico conformado por la cantidad de ciclos masticatorios los cuales están determinados por la consistencia de la dieta empleada, con el objetivo de reducir el alimento a un tamaño y consistencia adecuado que posibilite a través de las degluciones sucesivas, consumirlo	Dieta en granos (convencional) para ratón que determina la cantidad de ciclos masticatorios Dieta blanda (granos pulverizados) para ratón que determina la cantidad de ciclos masticatorios	Cantidad de dieta en granos o pulverizada para ratón	Razón	Masticación normal Masticación deficiente

ii. Operacionalización de la variable dependiente

Memoria-aprendizaje espacial

VARIABLE	DEFINICIÓN CONCEPTUAL	DEFINICIÓN OPERACIONAL	DIMENSIONES	INDICADORES	UNIDAD DE MEDIDA	ESCALA	VALOR FINAL
Memoria – aprendizaje espacial	Proceso cognitivo continuo, siendo la memoria el proceso por el cual se codifica o adquiere, se retiene y posteriormente se recupera la información espacial, y el aprendizaje el proceso mediante el cual dicha adquisición de la información espacial modifica el comportamiento posterior.	Proceso cognitivo continuo que se mide, en el ratón, por el tiempo que tarda en completar las pruebas en la fase de adquisición y en la fase de recuperación de memoria-aprendizaje espacial en el laberinto acuático de Morris espacial.	Fase de adquisición de memoria-aprendizaje espacial	Tiempo que tarda en completar las pruebas en la fase de adquisición de memoria-aprendizaje espacial	Segundos	Razón	Mayor memoria-aprendizaje espacial
			Fase de recuperación de memoria-aprendizaje espacial	Tiempo que tarda en completar las pruebas en la fase de recuperación de memoria-aprendizaje espacial	Segundos que nada en el cuadrante donde estuvo la plataforma oculta (cuadrante objetivo) Segundos que tarda en llegar a la zona donde estuvo la plataforma oculta		Menor memoria-aprendizaje espacial

Anexo 6. Vista de un ratón en pleno nado en la fase de adquisición de memoria-aprendizaje espacial



Anexo 7. Vista en primer plano de un ratón que ha llegado a la plataforma en la fase de adquisición de memoria-aprendizaje espacial



Anexo 8. Prueba de Normalidad Ratones Jóvenes

RATONES JOVENES	TIPO DE MASTICACION	Kolmogorov-Smirnov ^a		
		Estadístico	Gl	Sig.
DIA 1	NORMAL	,227	10	,153
	DEFICIENTE	,169	10	,200 [*]
DIA 2	NORMAL	,145	10	,200 [*]
	DEFICIENTE	,220	10	,186
DIA 3	NORMAL	,162	10	,200 [*]
	DEFICIENTE	,245	10	,091
DIA 4	NORMAL	,157	10	,200 [*]
	DEFICIENTE	,202	10	,200 [*]
TIEMPO DE NADO EN EL CUADRANTE OBJETIVO	NORMAL	,192	10	,200 [*]
	DEFICIENTE	,154	10	,200 [*]
TIEMPO HACIA LA ZONA DONDE ESTUVO LA PLATAFORMA OCULTA	NORMAL	,209	10	,200 [*]
	DEFICIENTE	,125	10	,200 [*]

*. Esto es un límite inferior de la significación verdadera.

a. Corrección de significación de Lilliefors

Anexo 9. Prueba de Normalidad Ratones Adultos

RATONES ADULTOS	TIPO DE MASTICACION	Kolmogorov-Smirnov ^a		
		Estadístico	Gl	Sig.
DIA 1	NORMAL	,261	10	,053
	DEFICIENTE	,173	10	,200*
DIA 2	NORMAL	,132	10	,200*
	DEFICIENTE	,295	10	,054
DIA 3	NORMAL	,118	10	,200*
	DEFICIENTE	,177	10	,200*
DIA 4	NORMAL	,194	10	,200*
	DEFICIENTE	,234	10	,128
TIEMPO DE NADO EN EL CUADRANTE OBJETIVO	NORMAL	,196	10	,200*
	DEFICIENTE	,166	10	,200*
TIEMPO HACIA LA ZONA DONDE ESTUVO LA PLATAFORMA OCULTA	NORMAL	,249	10	,080
	DEFICIENTE	,288	10	,058

*. Esto es un límite inferior de la significación verdadera.

a. Corrección de significación de Lilliefors

Anexo 10. Prueba de Normalidad Ratones Seniles

RATONES SENILES	TIPO DE MASTICACION	Kolmogorov-Smirnov ^a		
		Estadístico	Gl	Sig.
DIA 1	NORMAL	,222	10	,179
	DEFICIENTE	,250	10	,077
DIA 2	NORMAL	,158	10	,200 [*]
	DEFICIENTE	,133	10	,200 [*]
DIA 3	NORMAL	,192	10	,200 [*]
	DEFICIENTE	,136	10	,200 [*]
DIA 4	NORMAL	,175	10	,200 [*]
	DEFICIENTE	,186	10	,200 [*]
TIEMPO DE NADO EN EL CUADRANTE OBJETIVO	NORMAL	,197	10	,200 [*]
	DEFICIENTE	,182	10	,200 [*]
TIEMPO HACIA LA ZONA DONDE ESTUVO LA PLATAFORMA OCULTA	NORMAL	,198	10	,200 [*]
	DEFICIENTE	,286	10	,060

*. Esto es un límite inferior de la significación verdadera.

a. Corrección de significación de Lilliefors

Anexo 11. Principios Directrices Internacionales para la Investigación Biomédica que Implique el Uso de Animales

Consejo de Organizaciones Internacionales de las Ciencias Médicas (CIOMS), Ginebra, 1985, que se transcriben a continuación:

PRINCIPIOS:

- I. El avance del conocimiento biológico y el desarrollo de mejores medios de proteger la salud y el bienestar del hombre y de los animales requiere recurrir a la experimentación en animales vivos intactos de una amplia variedad de especies.
- II Métodos tales como modelos matemáticos, simulación por computadora y sistemas biológicos "in vitro" deben ser utilizados siempre que sean apropiados.
- II Los experimentos con animales deben realizarse solamente después de la debida consideración de su relevancia para la salud humana o animal y para el avance del conocimiento biológico.
- IV Los animales seleccionados para un experimento deben ser de la especie y calidad apropiada, y su número no debe ser mayor que el requerido para obtener resultados científicamente válidos.
- V Los investigadores y el resto del personal deben tratar siempre a los animales como seres sensibles y deben considerar como imperativo ético su cuidado y uso apropiado y evitarles o minimizarles el discomfort, diestrés o dolor.
- VI Los investigadores deben suponer que los procedimientos que causan dolor en los seres humanos causan dolor en otras especies vertebradas, aunque aun se requiere mas conocimiento acerca de la percepción de dolor por los animales.
- VII Los procedimientos con animales, que puedan provocar más que un diestrés o dolor mínimo o pasajero deben ser realizados con sedación, analgesia o anestesia, de acuerdo con las prácticas veterinarias aceptadas. No se deben practicar cirugías u otros procedimientos dolorosos en animales no anestesiados paralizados con agentes químicos.
- VIII Cuando se requiera incumplir las disposiciones del artículo VII, las decisiones no deben quedar en manos únicamente de los investigadores involucrados sino que deben ser realizadas por un grupo de revisión apropiadamente constituido y teniendo en cuenta lo establecido en los artículos IV, V y VI .Tal incumplimiento no debe realizarse para propósitos que involucren solamente enseñanza o demostraciones.

- IX Al final del experimento, o cuando sea apropiado durante el mismo, todo animal, que de otro modo sufriría de manera severa o crónica, dolor, diestrés, discomfort o discapacidad que no puedan ser remediados, debe ser sacrificado sin dolor.
- X Debe asegurarse a los animales mantenidos con propósitos biomédicos, las mejores condiciones de vida posibles. Normalmente el cuidado de los animales debe realizarse bajo supervisión de veterinarios que tengan experiencia en Ciencia de Animales de Laboratorio. En todo caso debe disponerse de cuidados veterinarios cuando sean requeridos.
- XI Es responsabilidad del Director del Instituto o Departamento que use animales asegurar que los investigadores y el personal involucrado tengan calificaciones o experiencia apropiadas para practicar experimentos en animales. Debe proveérseles oportunidades adecuadas de entrenamiento en servicio, que incluya la preocupación por el tratamiento correcto y humanitario de los animales bajo su cuidado.

Anexo 12. Aprobación del Comité de Ética de Investigación de la Facultad de Medicina de la UNMSM



UNIVERSIDAD NACIONAL MAYOR DE SAN MARCOS
(Universidad del Perú, DECANA DE AMÉRICA)
FACULTAD DE MEDICINA
COMITÉ DE ÉTICA DE INVESTIGACIÓN
"Año de la Diversificación Productiva y del Fortalecimiento de la Educación"



ACTA N°. 0210

CÓDIGO DE PROYECTO: N°. 0288

ACTA DE EVALUACIÓN ÉTICA

En Lima, a los nueve días del mes de abril de 2015, se realizó la **revisión ética expeditiva** de las recomendaciones Metodológicas y Éticas incorporadas como sugerencias de corrección al proyecto: **"Influencia del tipo de masticación sobre la memoria-aprendizaje especial en ratones albinos de la cepa balb/c jóvenes, adultos y seniles. Lima 2015"** que el Mg. Elías Ernesto Aguirre Siancas, ha cumplido satisfactoriamente.

RESULTADO: PROYECTO APROBADO

Lima, 9 de abril de 2015

UNIVERSIDAD NACIONAL MAYOR DE SAN MARCOS
FACULTAD DE MEDICINA

Dr. RICARDO TERUKINA TERUKINA
Presidente
del Comité de Ética de Investigación

Anexo 13. Prueba de Modelo General Lineal para evaluar el efecto del tipo de masticación en la fase de adquisición en cada grupo etario

EDAD	Efecto		Valor	F	Gl de hipótesis	gl de error	Sig.
Joven	factor1 * tipomastic	Traza de Pillai	,068	,392 ^b	3,000	16,000	,761
		Lambda de Wilks	,932	,392 ^b	3,000	16,000	,761
		Traza de Hotelling	,073	,392 ^b	3,000	16,000	,761
		Raíz mayor de Roy	,073	,392 ^b	3,000	16,000	,761
Adulto	factor1 * tipomastic	Traza de Pillai	,195	1,290 ^b	3,000	16,000	,312
		Lambda de Wilks	,805	1,290 ^b	3,000	16,000	,312
		Traza de Hotelling	,242	1,290 ^b	3,000	16,000	,312
		Raíz mayor de Roy	,242	1,290 ^b	3,000	16,000	,312
Seniles	factor1 * tipomastic	Traza de Pillai	,016	,086 ^b	3,000	16,000	,967
		Lambda de Wilks	,984	,086 ^b	3,000	16,000	,967
		Traza de Hotelling	,016	,086 ^b	3,000	16,000	,967
		Raíz mayor de Roy	,016	,086 ^b	3,000	16,000	,967
a. Diseño : Intersección + tipomastic							
Diseño dentro de sujetos: factor1							
b. Estadístico exacto							

El factor1 son los días comparados (día 1, 2, 3, 4), el *tipomastic es el tipo de masticación, factor 1 *tipomastic fue la intersección evaluada.

Anexo 14. Prueba de Anova para evaluar el efecto del tipo de masticación sobre los 3 grupos etarios en la fase de adquisición de memoria-aprendizaje espacial

ANOVA

TIEMPO PROMEDIO EN FASE DE ADQUISICION						
TIPO DE MASTICACION		Suma de cuadrados	Gl	Media cuadrática	F	Sig.
NORMAL	Entre grupos	1394,707	2	697,353	8,181	,002
	Dentro de grupos	2301,533	27	85,242		
	Total	3696,239	29			
DEFICIENTE	Entre grupos	1771,855	2	885,927	32,430	,000
	Dentro de grupos	737,592	27	27,318		
	Total	2509,447	29			

Anexo 15. Prueba Post hoc de Tukey para los 3 grupos etarios agrupados bajo masticación normal

TIPO DE MASTICACION=NORMAL			
HSD Tukey ^a			
EDAD	N	Subconjunto para alfa = 0.05	
		1	2
JOVEN	10	29,2822	
ADULTO	10	33,1038	
SENIL	10		47,1563
Sig.		,249	1,000
Se visualizan las medias para los grupos en los subconjuntos homogéneos.			
a. Utiliza el tamaño de la muestra de la media armónica = 10,000.			

Anexo 16. Prueba Post hoc de Tukey para los 3 grupos etarios agrupados bajo masticación deficiente

TIPO DE MASTICACION=DEFICIENTE			
HSD Tukey ^a			
EDAD	N	Subconjunto para alfa = 0.05	
		1	2
JOVEN	10	31,7167	
ADULTO	10		43,9778
SENIL	10		47,6685
Sig.		1,000	,649
Se visualizan las medias para los grupos en los subconjuntos homogéneos.			
a. Utiliza el tamaño de la muestra de la media armónica = 10,000.			

Anexo 17. Prueba de Anova para evaluar el efecto del tipo de masticación sobre los 3 subgrupos etarios en la fase de recuperación de memoria-aprendizaje espacial en la prueba de tiempo de nado en el cuadrante objetivo

ANOVA

Tiempo de búsqueda en el cuadrante objetivo		Suma de cuadrados	gl	Media cuadrática	F	Sig.
Masticación deficiente	Entre grupos	35,402	2	17,701	1,265	,298
	Dentro de grupos	377,720	27	13,990		
	Total	413,122	29			
Masticación normal	Entre grupos	23,587	2	11,794	,895	,421
	Dentro de grupos	355,932	27	13,183		
	Total	379,520	29			

Anexo 18. Prueba de Anova para evaluar el efecto del tipo de masticación sobre los 3 subgrupos etarios en la fase de recuperación de memoria-aprendizaje espacial en la prueba de tiempo que tardó el ratón en llegar a la zona donde estuvo la plataforma oculta

ANOVA

Tiempo de búsqueda en el cuadrante objetivo		Suma de cuadrados	gl	Media cuadrática	F	Sig.
Masticación normal	Entre grupos	36,987	2	18,494	1,603	,220
	Dentro de grupos	311,494	27	11,537		
	Total	348,481	29			
Masticación deficiente	Entre grupos	15,615	2	7,808	,543	,587
	Dentro de grupos	387,918	27	14,367		
	Total	403,533	29			